

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**VALOR PRONÓSTICO DE LOS NIVELES
PLASMÁTICOS DE MCP-1, GALECTINA-3 Y
NT-PROBNP EN PACIENTES CON
ENFERMEDAD CORONARIA ESTABLE**

TESIS DOCTORAL

**JAVIER HIGUERAS NAFRÍA
LICENCIADO EN MEDICINA
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA**

Directores: José Tuñón Fernández y Nieves Tarín Vicente

AGRADECIMIENTOS

En estos días inciertos en que vivir es un arte, mantener el puesto de trabajo una obsesión y la cordura una quimera, no resulta sencillo embarcarse en una empresa que a lo peor no facilite ninguno de los tres aspectos referidos. Y el que me animara a demostrar que se puede llegar a las Indias científicas a contracorriente tiene nombre y apellido: José Tuñón. Perteneciente a una saga de cardiólogos clínicos nacidos en la Clínica de la Concepción, cuna y lugar de trabajo de verdaderos genios de la Medicina en general y de la Cardiología y la Cirugía Cardíaca en particular. Profesionales del calado del Profesor Jiménez Díaz, que inculcó en el hospital una filosofía galénica que se basa en la historia, en la exploración, en aprender a pensar e integrar la información. O del Dr. Rábago, cirujano genial, cuya obra sobrevivió a su hacedor tanto que un servidor tuvo el privilegio de revisar pacientes operados por él tras más de treinta años. Pues esa Santa Casa convirtió a un humilde estudiante de Medicina con título de galeno, con tanta ilusión como inexperiencia y lo que es peor, con esa nebulosa de datos en la cabeza guardados en cajones cerebrales sin conexión aparente entre ellos, en un cardiólogo que en ocasiones se da el privilegio de cambiar el pronóstico de sus pacientes. Astilla como soy de una madera que se ha curado al son científico de los Farré, Almeida, Rey, Rábago (Rosa), Navarro, Marcos-Alberca, Rubio y compañía, me faltaba algo para ser un médico completo. Y fue el Dr. Tuñón quién retiró el velo de mis ojos. Y lo consiguió en un momento muy difícil en lo profesional lo cual no consigue sino acrecentar su valía. Permaneceré siempre en deuda con él por haberme permitido trabajar con su grupo de colaboradores, por aceptarme dentro de un engranaje científico que año tras año demuestra su potencia con publicaciones en las más prestigiosas revistas. Él es el alma de este estudio y el escultor de esta Tesis, ayudándome a cincelar el trabajo para que quede de la manera que presentamos. Además, y es lo más importante, es un oasis científico en su medio y en su tiempo, en una época en la que lo que no produce “resultados”, “eficiencia”, “altas”, etcétera no está del todo bien visto. Gracias a Dios, aún nos quedan “Joses”.

También quiero mencionar en este listado al Dr. Macaya, por la oportunidad que me ha dado de participar en un proyecto profesional envuelto en un hospital de un marcado cariz docente e investigador, que se ha fusionado con mi formación clínico-práctica aprendida y aprehendida en la Fundación Jiménez Díaz, en mis años de residencia.

El Dr. Borja Ibáñez es otra pieza clave. Mi residente mayor en tiempos, del que

aprendí desde la historia clínica al ECG, ahora también ha encontrado tiempo para activarme el gen investigador y llevarme con él al CNIC, para que éste trabajo no quede como una isla curiosa en mi currículo. Por esto, y por muchas otras cosas innombrables, no puedo sino estarle eternamente agradecido.

Por último, aunque sea un clásico, no es incierto que uno deba agradecer a su familia el tiempo que les ha robado para generar esta tesis. Agradezco a Miriam, mi esposa, sus ánimos en los días difíciles, sus “guardias extras” de cuidados de niñas, en las jornadas de mayor trabajo. Su paciencia, su saber estar. Su todo. Y a mis pequeñas, Paula y Nuria, con las que quiero disculparme por las horas que no he disfrutado de sus risas y de sus juegos. Espero que el día de mañana puedan leer este documento y estar tan orgullosas de su padre, como él lo está de ellas. Y por supuesto a mis progenitores, Luis y Mari Cruz, que me regalaron su sabiduría sobre la vida y la naturaleza humana, lo que me ha acercado, sin duda, a mis objetivos. Espero que estén orgullosos de que su primogénito sea el primero de la familia que llega a presentar su Tesis ante un Tribunal.

Gracias a todos.

RESUMEN

En esta Tesis hemos estudiado el valor pronóstico de un grupo de potenciales biomarcadores plasmáticos en pacientes con enfermedad coronaria estable. Se ha tenido en cuenta que los pacientes que padecen esta patología no sólo pueden desarrollar eventos vasculares isquémicos, sino también eventos secundarios al daño miocárdico relacionado con síndromes coronarios agudos previos o con factores de riesgo tales como la hipertensión. Además, estos pacientes también pueden morir por otras enfermedades como el cáncer o la insuficiencia renal. Se seleccionó un panel de biomarcadores para tratar de cubrir todos estos trastornos: MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1), implicado en la inflamación y la aterotrombosis; TWEAK (Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis), relacionado con la apoptosis, la inflamación y la proliferación celular; galectina-3, que desempeña un papel en la insuficiencia cardíaca, trombosis y cáncer; NGAL (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin), relacionados con el daño renal y la insuficiencia cardíaca, y NT-proBNP (N-terminal pro-brain natriuretic peptide), relacionado con la insuficiencia cardíaca. Además, se estudió la troponina de alta sensibilidad, pues los niveles elevados de esta molécula se han relacionado con patologías no cardiovasculares potencialmente mortales.

Analizamos 706 pacientes con enfermedad coronaria estable y antecedentes de síndrome coronario agudo. Al comienzo del estudio, se extraía plasma y se registraba un conjunto completo de variables clínicas. La media de seguimiento fue de $2,2 \pm 0,99$ años.

Cincuenta y tres pacientes desarrollaron el objetivo secundario de sufrir un evento isquémico agudo (cualquier síndrome coronario agudo, accidente cerebrovascular, o un accidente isquémico transitorio). Sólo los niveles plasmáticos de MCP-1 ($p=0,002$), junto con la presencia de hipertensión arterial, la edad y el índice de masa corporal se mantuvieron como predictores independientes de recurrencia de eventos trombóticos (modelo de riesgos proporcionales de Cox).

Treinta y tres pacientes desarrollaron el objetivo secundario compuesto por insuficiencia cardíaca o muerte. En el análisis multivariado, los niveles de NT-proBNP ($p=0,004$) y Galectina-3 ($p=0,007$) fueron predictores independientes de este objetivo, junto con la hipertensión, la terapia con nitratos y acenocumarol y una tasa de filtración glomerular baja.

Setenta y ocho pacientes presentaron el objetivo primario, que era el compuesto por la combinación de los secundarios. Los niveles plasmáticos de MCP-1 ($p=0,022$), Galectina-3 ($p=0,025$) y de NT-proBNP ($p=0,020$) fueron predictores

independientes de este evento, junto con la hipertensión, la edad y el tratamiento con nitratos.

Una escala de riesgo clínico derivada del estudio LIPID (Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease) predijo significativamente el desarrollo del objetivo primario, con un área bajo la curva ROC (Receiver Operating Characteristic) de 0,642 (0,579-0,705); $p < 0,001$. Desarrollamos una escala combinada utilizando esta escala y los valores de MCP-1, Galectina-3 y NT-proBNP. Con ella, el nivel predictivo mejoró con un área bajo la curva de 0,744 (0,684-0,805); $p < 0,001$. Una puntuación inferior a 21,5 mostró una sensibilidad del 74% y una especificidad del 61% para el desarrollo del objetivo primario. Las curvas de Kaplan-Meier confirmaron que los pacientes con una puntuación inferior a este valor tenían mejor pronóstico que el resto ($p < 0,001$; test de log-rank).

En conclusión, los niveles plasmáticos de MCP-1, Galectina-3 y NT-proBNP mejoran nuestra capacidad para predecir el pronóstico de los pacientes con enfermedad coronaria estable. Si nuestros datos se confirman en futuros estudios, este panel de biomarcadores podría ser útil para estratificar el riesgo de estos pacientes.

ABSTRACT

In this work, we have studied a panel of potential prognostic plasma biomarkers in patients with chronic coronary artery disease. We have taken into account the fact that patients who suffer from this disorder may not only develop vascular ischemic events, but also events secondary to myocardial damage related to previous acute coronary syndromes or to cardiovascular risk factors, such as hypertension. Moreover, these patients may also die from other diseases such as malignancies or renal damage. We selected a panel of biomarkers in an attempt to cover all these disorders: monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), involved in inflammation and atherothrombosis; tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK), related to apoptosis, inflammation and cell proliferation; galectin-3, which plays a role in thrombosis, heart failure and malignancies; neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), related to renal damage and heart failure; and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), related to heart failure. Also, high-sensitivity troponin was studied, as this molecule has been related to life-threatening non-cardiac disorders.

Seven hundred six patients with stable coronary artery disease and a history of acute coronary syndrome were included. On admission, plasma was withdrawn and a complete set of clinical variables was recorded. Mean follow-up was 2.2 ± 0.99 years. Fifty-three patients developed the secondary outcome of acute ischemic events (any acute coronary syndrome, stroke, or transient ischemic attack). According to a Cox risk proportional hazards model, only increasing MCP-1 plasma levels ($p=0.002$), along with a diagnosis of hypertension, age and body-mass index remained as independent predictors of recurrence of thrombotic events.

Thirty-three patients developed the secondary outcome composed of heart failure or death. When a multivariate analysis was performed, NT-proBNP ($p=0.004$) and galectin-3 ($p=0.007$) were observed to be independent predictors of the development of this outcome, along with hypertension, a low glomerular filtration rate, and therapy with nitrates or acenocumarol.

Seventy-eight patients developed the primary end point, which consisted of the combination of the secondary end points. MCP-1 ($p=0.022$), galectin-3 ($p=0.025$) and NT-proBNP levels ($p=0.020$) were independent predictors of this outcome, along with hypertension, age, therapy with nitrates.

A clinical risk scale derived from the LIPID (Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease) study predicted the development of the primary end point with statistical significance, with an area under the ROC (Receiver Operating Characteristic) curve of 0.642 (0.579-0.705); $p<0.001$. We developed a combined

score using this scale and plasma levels of MCP-1, galectin-3 and NT-proBNP. Using this score, the predictive level improved, with an area under the curve of 0.744 (0.684-0.805); $p < 0.001$. Kaplan-Meier curves showed and improved prognosis for patients with a combined score lower than 21.5 ($p < 0.001$, log-rank test).

In conclusion, plasma levels of MCP-1, galectin-3 and NT-proBNP increase our ability to predict the prognosis of patients with coronary artery disease. If further work confirms our data, this biomarker panel would be useful in stratifying the risk of these patients.

INDICE

1.- INTRODUCCIÓN	Pág. 10
1.1. MAGNITUD DEL PROBLEMA.....	Pág. 10
1.2. FACTORES DE RIESGO	Pág. 16
1.3. PATOGENIA DE LA ATERTROMBOSIS	Pág. 20
1.4. ESTRATIFICACIÓN DE RIESGO EN CARDIOPATÍA ISQUÉMICA CRÓNICA.....	Pág. 33
1.5. BIOMARCADORES. ESTADO ACTUAL.....	Pág. 39
1.6. EL RIESGO GLOBAL EN EL PACIENTE CORONARIO.	Pág. 45
1.7. RECAPITULACIÓN.....	Pág. 48
2.- HIPÓTESIS.....	Pág. 49
3.- OBJETIVOS.....	Pág. 50
4.- MÉTODOS.....	Pág. 51
5.- RESULTADOS.....	Pág. 56
6.- DISCUSIÓN.....	Pág. 70
7.- CONCLUSIONES.....	Pág. 79
8.- BIBLIOGRAFÍA.....	Pág. 80

TABLA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
Ang II	Angiotensina II
CML	Célula muscular lisa
Cox 2	Ciclooxigenasa 2
CTGF	Connective tissue growth factor
DM	Diabetes
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
FGR	Filtrado Glomerular renal
FRC	Factor de Riesgo Coronario
GMC-SF	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HTA	Hipertensión arterial
IAM	Infarto agudo de miocardio
IAMCEST	Infarto agudo de miocardio con elevación de ST
IAMSEST	Infarto agudo de miocardio sin elevación de ST
IC	Insuficiencia cardíaca
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IECA	Inhibidor de la enzima convertasa de angiotensina
IP	Interferon-gamma inducible protein
ITAC	Interferon-inducible T cell alpha chemoattractant
LDL	Lipoproteína de baja densidad
MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1
MCSF	Macrophage colony-stimulating factor
MIG	Monokine Induced by Gamma Interferon
MMP	Matrix Metalloproteinase
NF- κ B	Nuclear Factor Kappa-B
NO	Óxido nítrico
NT-proBNP	Extremo amino terminal del péptido natriurético tipo B
PCR	Proteína C reactiva
PDGF	Platelet-derived growth factor
ROC	Receiver Operating Characteristic
RPA	Riesgo poblacional atribuible
SCA	Síndrome coronario agudo
SCASEST	Síndrome coronario agudo sin elevación de ST
TGF- β	Transforming growth factor beta
TIMPS	Tissue inhibitor of metalloproteinase
VCAM-1	Vascular cell adhesion protein 1
VEGF	Vascular endotelial growth factor
VLA4	Very late antigen-4

1. INTRODUCCIÓN

1.1. MAGNITUD DEL PROBLEMA

Las enfermedades cardiovasculares son actualmente la primera causa de muerte en los países desarrollados y constituyen un gran problema sanitario que consume una importante cantidad de recursos.¹

Entre las enfermedades cardiovasculares, la aterosclerosis es la más frecuente y la responsable del mayor número de muertes.¹ Las primeras décadas del siglo XX contemplaron un progresivo descenso de la mortalidad por enfermedades infecciosas y un importante aumento de la enfermedad coronaria. La enfermedad aterosclerótica comienza en edades tempranas de la vida y sigue una evolución subclínica durante décadas, manifestándose en la quinta-sexta década de la vida en los hombres y unos 10 años más tarde en las mujeres. Sus principales manifestaciones clínicas son el infarto agudo de miocardio (IAM), la angina de pecho, la muerte súbita o el accidente vascular cerebral que pueden generar secuelas irreversibles e incluso la muerte. La aparición de la enfermedad y su progresión están condicionadas por la presencia de los llamados factores de riesgo.

Para las personas mayores de 75 años el riesgo de padecer enfermedad coronaria es del 35% en varones y del 24% en mujeres. La incidencia de aparición de eventos coronarios fatales va aumentando con la edad, presentándose en las mujeres 10 años más tarde que en los hombres. Esta diferencia se va reduciendo en edades avanzadas. Otro momento clave es la menopausia. Antes, la presencia de enfermedad coronaria severa es rara en la mujer. Tras el climaterio, la incidencia aumenta abruptamente, multiplicando por tres el riesgo sobre mujeres fértiles de la misma edad.

La enfermedad coronaria es la mayor causa de muerte en mayores de 35 años en países desarrollados.² La mortalidad es tres veces mayor en varones hasta los 25-34 años. En edades más avanzadas esta diferencia por sexo disminuye, de tal forma que a partir de los 75 años, la mortalidad en varones es 1,6 veces mayor. Se estima que produce 1,9 millones de fallecimientos cada año tan sólo en la Unión Europea. Esta patología presenta una gran variabilidad geográfica en la incidencia y la mortalidad, que difiere en gran medida, incluso en países cercanos. España tiene la segunda tasa de cardiopatía isquémica más baja de Europa, sólo superior a la de Francia. No obstante, la cardiopatía isquémica representa en España un problema

de salud de primera magnitud. En nuestro medio, las tasas de mortalidad por enfermedad coronaria han disminuido de manera continuada durante los últimos 40 años (Figura1).

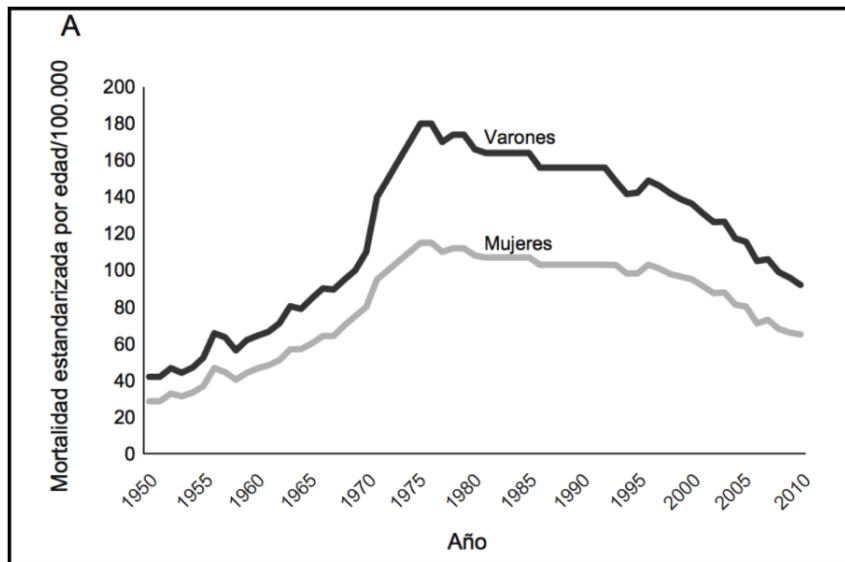


Figura 1. Tendencia de la mortalidad por enfermedad coronaria en España. Tasas estandarizadas de mortalidad por enfermedad coronaria en 1950-2010 según sexo.³

Sin embargo, el número absoluto de muertes por enfermedad coronaria aumentó de 1980 a 2000 y se ha reducido de manera constante desde entonces (Figura 2).

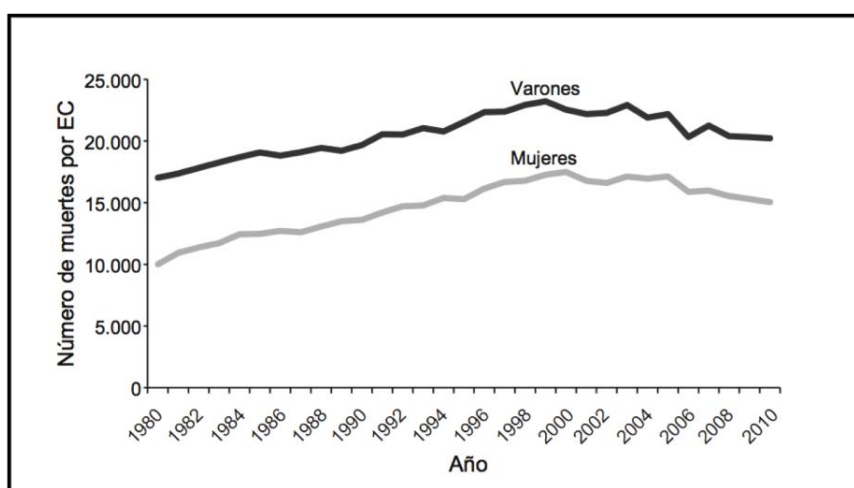


Figura 2. Tendencia de la mortalidad por enfermedad coronaria en España. Número de muertes anuales por enfermedad coronaria en 1980-2010 según sexo.³

La enfermedad coronaria sigue siendo la causa individual de muerte más frecuente para los varones y la segunda para las mujeres.^{3,4}

Por lo que respecta a la incidencia, las tasas de incidencia del IAM en España se mantuvieron relativamente estables durante los últimos 20 años del pasado siglo, antes de la aprobación de la nueva definición del IAM de 2000. Las altas con diagnóstico de enfermedad coronaria aumentaron de 31.032 en 1977 a 152.190 en 2004, y luego se redujeron a 129.944 en 2010.³ (Figura 3)

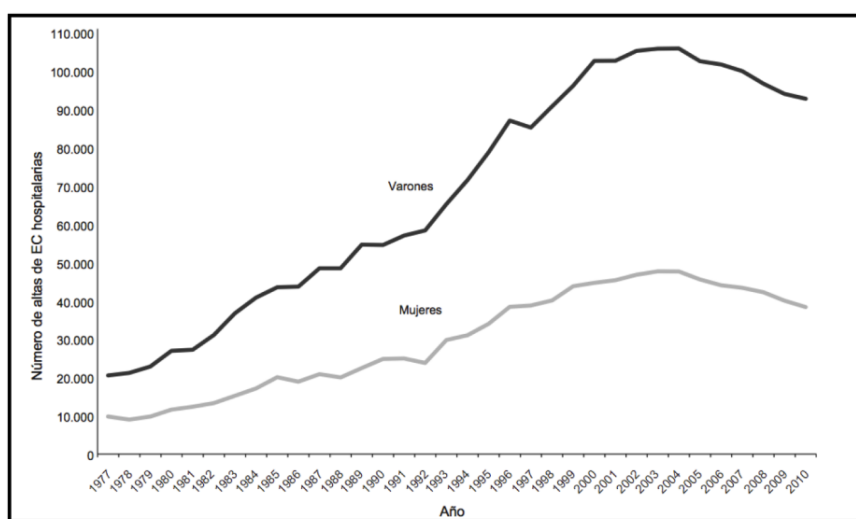


Figura 3. Número de casos de enfermedad coronaria hospitalizados en 1977-2010 por sexo, según el Instituto Nacional de Estadística³

El aumento en el primer periodo probablemente se debió a tres grandes aspectos: 1) la nueva definición del IAM, que incrementa el número de pacientes diagnosticados, 2) el incremento de la población anciana con una tasa de incidencia de síndrome coronario agudo (SCA) más alta que la tasa de los grupos de edad más jóvenes, y 3) la mejora de la supervivencia tras un evento coronario agudo, que aumenta el número de pacientes con una enfermedad coronaria prevalente, casos conocidos que requerirán posteriores reingresos.³ Parece que se ha alcanzado un nuevo equilibrio entre el número de casos incidentes y la cohorte de supervivientes a una enfermedad coronaria después del año 2004, ya que la mortalidad en la cohorte de enfermedad coronaria habría aumentado en los últimos años con el avance progresivo de la edad de los individuos que la forman.

La asistencia del SCA consume una gran cantidad de recursos en España. A comienzos del siglo XXI, sólo los costes directos de la asistencia sanitaria a los pacientes que se encontraban en el primer año tras el diagnóstico del SCA fueron de 1.030 millones de euros anuales.⁴ Los SCA aumentarán hasta el año 2049 debido al envejecimiento de la población (Figura 4).³

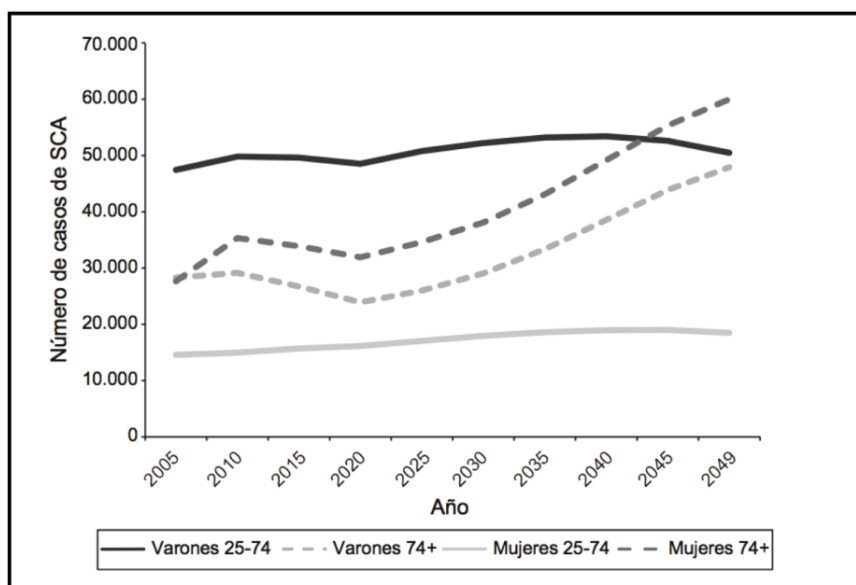


Figura 4. Número de casos de síndrome coronario agudo, tendencia de 2005 a 2049 por grupos de edad y sexo en población española.³

En general, la mortalidad de los eventos coronarios ha descendido desde 1975, con la introducción de las unidades coronarias, las terapias de revascularización, así como la generalización del uso de betabloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs), estatinas y aspirina, aunque esta caída se ha ralentizado en los últimos años.^{5,6} En Estados Unidos, desde 1996 hasta 2006 la mortalidad descendió un 30%.² En lo que respecta al IAM agudo de miocardio con elevación de ST (IAMCEST) la mortalidad difiere si son datos obtenidos de ensayos clínicos, en los que la mortalidad a los 30 días ha pasado del 13% sin tratamiento revascularizador, al 6-7% con fibrinolítico y baja al 3% con terapia revascularizadora invasiva.^{7,8,9,10} En datos obtenidos fuera de los ensayos clínicos, la mortalidad se sitúa en un 9% durante el ingreso y 11% a los 30 días.^{11,12} En un reciente registro francés publicado en 2012, se objetivó que en el período que va desde 1995 hasta 2010, la mortalidad por IAMCEST ha pasado del 13,7 al 4,4%.⁶

Los datos del registro REGICOR muestran que el IAM tiene todavía una letalidad elevada en nuestro país.¹³ Un 20% de los pacientes entre 35 y 74 años con IAM que llegan vivos al hospital muere durante la estancia hospitalaria. Casi la mitad (42,1%) de todos los pacientes entre 35 y 74 años que presentan un IAM muere antes de transcurrido un mes y dos tercios de estas muertes se producen sin que los pacientes alcancen la atención especializada hospitalaria. En el registro PRIMVAC se observó una disminución de la letalidad intrahospitalaria desde un 14,1% en 1995 hasta un 8,9% en 2004.¹⁴ La comparación entre la letalidad hospitalaria del PRIAMHO I y el PRIAMHO II muestra también un descenso significativo.^{15,3} Los datos sobre la situación del SCA en España en 2013 acaban de ser publicados como una estimación.³ En ellos se aprecia que la mortalidad del IAM con y sin elevación del ST a los 28 días sigue estando entorno al 11%. (Figura 5)

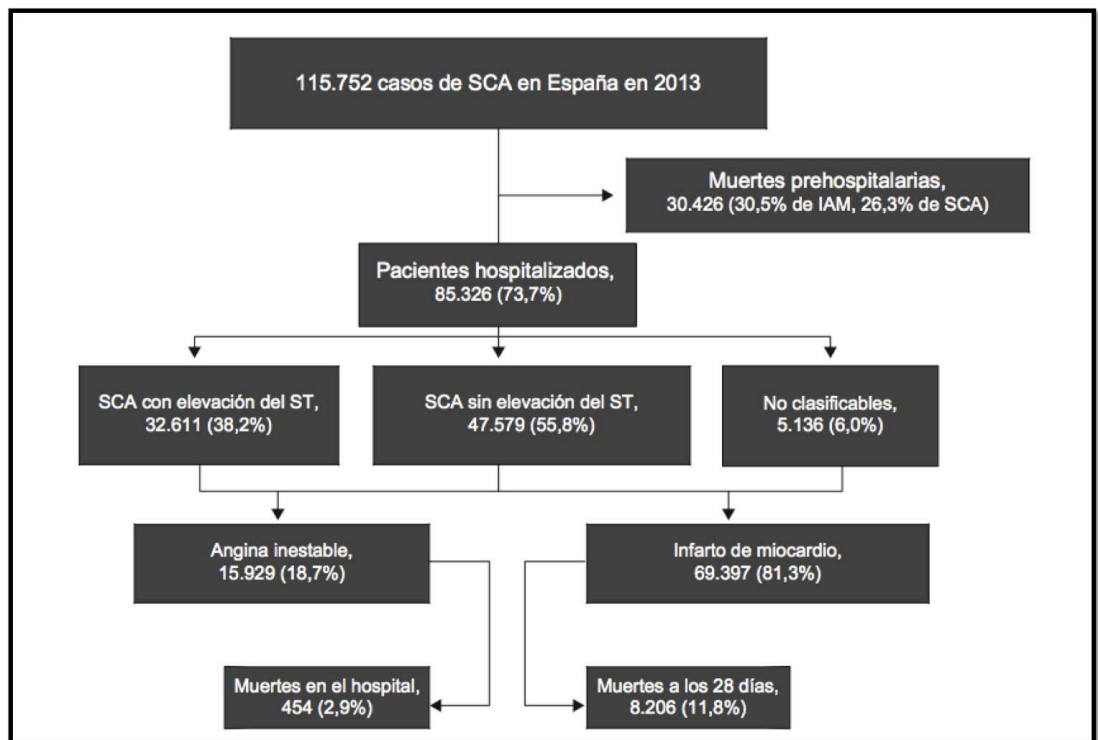


Figura 5. Diagrama de flujo del número de casos de síndrome coronario agudo en España: datos de población, muertes fuera del hospital y letalidad a los 28 días del inicio de los síntomas de los pacientes hospitalizados.³

La mortalidad a largo plazo de los diferentes síndromes coronarios es mayor en los SCA sin elevación de ST (SCASEST) (11%) que para el IAMCEST (7%) a diferencia de lo que cabría pensar.¹⁶ Esas diferencias casi se duplican a los dos

años, en registros, en los que se afirma que la mortalidad del SCASEST es del 20% por un 11% del IAMCEST.¹⁷

El pronóstico a largo plazo también ha mejorado según ha evolucionado el tratamiento revascularizador. La mortalidad ha disminuido desde la época pre-revascularizadora en la que la mortalidad a largo plazo tras un IAMCEST era del 10% tras el primer año y un 5% en los siguientes años. Para el segundo IAM dicha mortalidad se duplica. En registros, la mortalidad se sitúa entorno al 5% para el SCASEST y el 3% de la angina inestable.^{11,18,19,20} En Europa, según el Euro Heart Survey, la mortalidad del SCASEST se sitúa entre 5,8-7% del IAM sin onda Q y del 1-2% de la angina inestable.¹²

Como ya se ha dicho, está descrito que un gran porcentaje de pacientes con IAM fallece antes de llegar al hospital sin que puedan beneficiarse de los avances del tratamiento para esta patología.^{3,21} Es quizá el punto más negativo y sobre el que se ha influido poco hasta el momento actual. La mortalidad pre hospitalaria del IAM agudo en España puede llegar, según las publicaciones, hasta el 66%.⁴ Así pues, estos datos sugieren la necesidad de buscar la manera de identificar a los sujetos con riesgo de desarrollar un IAM y de estratificar el riesgo de los pacientes que ya lo han padecido. Todo ello es clave a la hora de organizar la asistencia de esta patología y racionalizar los recursos.

1.2 FACTORES DE RIESGO

Factores de riesgo de aterotrombosis

Podemos definir los factores de riesgo de aterotrombosis como aquellas condiciones cuya presencia facilita el desarrollo de esta patología, y cuya erradicación o atenuación, bien por fármacos bien por cambios en el estilo de vida, resulta en una menor incidencia de esta patología. Tras unas primeras observaciones que sugerían que las dietas ricas en grasas se asociaban a una mayor incidencia de aterosclerosis coronaria, el estudio Framingham confirmaba que la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial y el sexo varón eran, efectivamente, factores de riesgo coronario.²² Posteriormente, múltiples estudios añadirían el tabaquismo y la diabetes a lo que sería la lista de los factores de riesgo coronario hoy conocidos como “clásicos”, junto a la edad y los niveles bajos de HDL.^{23,24,25}

Estos cuatro factores de riesgo clásicos sumados a la historia familiar de enfermedad cardiovascular son los más importantes. En un registro americano que incluyó 540.000 pacientes que presentaron su primer episodio de IAM entre 1994 y 2006, se comprobó que el 86% de ellos tenía al menos uno.²⁶ En el registro MRFIT, que incluyó 380.000 personas provenientes de tres estudios prospectivos sin antecedentes de enfermedad coronaria previa, se establecieron como factores de riesgo colesterol ≥ 240 mg/dl, presión arterial sistólica ≥ 140 mmHg o diastólica ≥ 90 mmHg, hábito tabáquico y diabetes.²⁷ Por último, el más reciente INTERHEART, mostró que se relacionan con el riesgo de IAM el consumo de tabaco (razón de probabilidades 2,87, con un riesgo poblacional atribuible –RPA- del 35,7% frente al que nunca fumó), la hiperlipemia, medida como la relación APOB/APOA1 (razón de probabilidades 3,25 para el quintil superior frente al inferior con un RPA 49,2% para los cuatro quintiles superiores en comparación con el inferior), historia de hipertensión arterial (1,91, RPA 17,9%), diabetes (2,37, RPA 9,9%), obesidad abdominal (1,12 para el tercil superior en comparación con el inferior, RPA 20,1% para los dos terciles superiores comparados con el inferior), factores psicosociales (2,67, RPA 32,5%), consumo diario de frutas y verduras (0,70, RPA 13,7% para el grupo que no consumía), consumo regular de alcohol (0,91, RPA 6,7%), y realización de actividad física regular (0,86, RPA 12,2%).²⁸

Es decir, además de los cuatro factores de riesgo clásicos, destacan otros factores como la obesidad y la dieta, ambos relacionados entre sí, que han sido

señalados en múltiples estudios como factores de riesgo importantes. Así, la obesidad se asocia con otros factores de riesgo para la aparición de aterosclerosis, enfermedad cardiovascular y mortalidad cardiovascular, como la hipertensión arterial, la resistencia insulínica, la intolerancia a la glucosa, la hipertrigliceridemia, niveles reducidos de colesterol HDL y bajos de adiponectina, así como disminución en la actividad física. Sin embargo, en datos obtenidos del estudio Framingham, la obesidad (medida como índice de masa corporal) se asoció significativa e independientemente a la aparición de enfermedad cardio y cerebrovascular, tras ajustar para los factores tradicionales.^{29,30} En lo que se refiere a la dieta, además del efecto protector de la dieta rica en frutas y verduras que mostró el estudio INTERHEART sabemos que ingestas ricas en glúcidos (medido tanto en el porcentaje de la dieta como en “sobrecargas” puntuales), aumenta el riesgo relativo de enfermedad cardiovascular entre un 25-50%.^{28,31} Además, la dieta rica en carne roja y grasa (dos o más tomas diarias) ha mostrado aumentar el riesgo hasta un 29% comparado con aquellos que la toman 0,5 veces al día de media.³² La dieta rica en fibra ha mostrado su efecto protector en varios estudios.^{33,34} Relacionado con la obesidad y la dieta, otro gran factor de riesgo es la falta de actividad física. Además de lo aportado por los grandes registros comentados, en los que se observa una disminución de riesgo con la realización de ejercicio regular moderadamente exigente, cabe destacar que las personas que realizan un ejercicio físico al menos moderado como parte de su trabajo diario tienen menor riesgo comparado con trabajadores sedentarios.³⁵

Según avanza el conocimiento de la enfermedad coronaria y a la vista de que el mejor control de los factores de riesgo clásicos no ha terminado con la patología, se ha seguido investigando la posible existencia de nuevos factores de riesgo con resultados controvertidos. Así, se han relacionado con la enfermedad cardiovascular factores como la hiperhomocisteinemia, el fibrinógeno elevado y la Lipoproteína (a), entre otros. Sin embargo, los resultados de estudios prospectivos o de tratamiento para combatirlos no han mostrado consistentemente datos positivos.^{36,37,38}

Además de los factores de riesgo puestos de manifiesto en estos registros, se han llegado a describir más de 200 factores de riesgo cardiovascular. Aunque excede el objeto de esta Tesis el comentarlos todos, hay algunos que, en nuestra opinión, son especialmente relevantes:

Enfermedad crónica renal. La relación con el estadio final de la enfermedad renal es conocida desde hace tiempo, pero no hay una clara evidencia sobre la

relación con la insuficiencia renal ligera o moderada. Aún así las guías de práctica clínica de la Kidney Foundation recomiendan que la enfermedad renal sea considerada como equivalente de enfermedad cardiovascular.^{39,40,41,42}

Enfermedad arterial periférica. La enfermedad arterial periférica, aumenta el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular.⁴³ Hay estudios que muestran que duplica el riesgo de IAM. Otros indican aumentos más modestos pero no menores del 20%.⁴⁴ Estos resultados no son sorprendentes pues, en síntesis, se trata de la misma enfermedad en diferentes localizaciones.⁴⁵

Condiciones genéticas: Se han asociado diferentes haplogrupos, relacionados con el cromosoma Y que podrían ayudar a explicar las diferencias inherentes al sexo y a la herencia familiar.⁴⁶ En el reciente estudio INTERHEART el factor hereditario no aportaba un riesgo añadido de IAM.²⁸ Sin embargo, analizado el artículo, se recogía como antecedente de enfermedad aterosclerótica sólo los familiares de primer grado menores de 60 años, lo que quizá minimizó el impacto de este factor. Es más, en nuestra experiencia hemos visto que en un número no desdeñable de casos es imposible recoger de un modo fidedigno este dato.

Enfermedades sistémicas. Existen diferentes enfermedades que se asocian con un aumento del riesgo cardiovascular, tales como la deficiencia androgénica y las enfermedades del colágeno, en especial el lupus y la artritis reumatoide.^{47,48,49} También se han asociado infecciones agudas sistémicas por bacterias y virus. Sin embargo, el tratamiento antibiótico ha dado resultados dispares en la prevención de eventos cardiovasculares.^{50,51,52,53,54,55,56,57} Así en el momento actual ninguna guía de actuación apoya el tratamiento antibiótico para la prevención de la enfermedad cardiovascular.

Apnea obstructiva del sueño. Este síndrome provoca un aumento del riesgo de arritmias, de HTA y de hipertensión pulmonar.^{58,59,60,61} En cuanto a la enfermedad coronaria, hay una evidencia creciente de que la apnea obstructiva grave está asociada con aumento de la morbilidad cardiovascular (que incluye IAM e ictus) en comparación con la apnea obstructiva de menor grado.⁶² También se ha demostrado que puede exacerbar una enfermedad coronaria preexistente.⁶³ Sin embargo, hay estudios que muestran que el síndrome de apnea obstructiva no grave puede tener un efecto protector, quizá por un proceso de preconditionamiento inducido por los eventos apneicos.⁶⁴ Estos hallazgos requieren de nuevos estudios que lo confirmen.

Frecuencia cardíaca. Tanto en reposo como en el pico de ejercicio puede

predecir mortalidad por enfermedad cardiovascular. En concreto, en pacientes sin enfermedad coronaria conocida ya hay varios estudios que demuestran mayor número de eventos coronarios cuanto mayor sea la frecuencia cardiaca basal. Se ha publicado que por encima de 90 latidos por minuto existe un riesgo ajustado de mortalidad cardiovascular 2.02 mayor que el presente por debajo de 70 lpm.⁶⁵ Incluso se ha sugerido que el aumento de la frecuencia cardiaca a lo largo del tiempo también se asocia con mayor mortalidad cardiovascular y total.⁶⁶ En ensayos con pacientes con enfermedad cardiaca previa, como el BEAUTIFUL y el SHIFT, también se ha demostrado la importancia del control de la misma tanto en el paciente isquémico crónico como en aquellos con insuficiencia cardiaca (IC) y disfunción ventricular con ivabradina.^{67,68}

1.3. PATOGENIA DE LA ATERTROMBOSIS

La pared arterial sana

La pared arterial tiene tres capas: la íntima, la media y la adventicia. La íntima está formada por una capa de células endoteliales situadas sobre una lámina basal de tejido conectivo. El endotelio no tiene una mera función de barrera limitante de la sangre, sino varios cometidos de gran interés. Regula el intercambio molecular entre la sangre y la pared vascular, cuyo tono controla produciendo óxido nítrico (NO) y prostaglandina I₂, que inducen relajación de las células musculares lisas (CML) de la capa media de la pared arterial.^{69,70} Además, el NO regula la permeabilidad vascular, y tiene acciones antiproliferativas y antitrombóticas.^{71,72,73,74,75} Todo ello hace que tenga un papel clave en la protección contra la aterotrombosis.

La capa media está separada de la íntima por la Lámina Elástica Interna, y compuesta por colágeno, fibras elásticas y CML, que regulan el tono vasomotor. En el proceso aterosclerótico estas células proliferan y migran siendo responsables de la formación de la cápsula fibrosa de las lesiones.

Por último, la adventicia es la capa más externa de la arteria, estando delimitada de la capa media por la llamada Lámina Elástica Externa, compuesta de tejido conectivo al igual que la interna. Esta capa está compuesta de tejido fibroelástico que contiene nervios y vasa vasorum. Quizás por ser la más alejada de las lesiones, es la que menos atención ha recibido en el estudio del proceso aterotrombótico.⁷⁶ Sin embargo, en estos años se ha reivindicado un papel para ella en la etiopatogenia de la aterosclerosis.⁷⁷

Formación de la placa aterosclerótica

Las lesiones ateroscleróticas se presentan fundamentalmente en vasos grandes y medianos y, dentro de ellos, en la cara interna de las curvaturas o frente a las bifurcaciones, donde las condiciones de flujo facilitan la acumulación de moléculas en la pared arterial.⁷⁸ En estas zonas hay un menor rozamiento de la sangre circulante sobre la pared vascular, y esto hace que el endotelio no exprese su fenotipo habitual de células ordenadamente alineadas en la dirección del flujo.^{79,80}

Además hay un aumento del recambio celular y, como consecuencia, disminuyen las uniones intercelulares, aumentando la permeabilidad endotelial a las moléculas circulantes en sangre.^{78,81,82}

Disfunción endotelial

La disfunción endotelial es el evento inicial de la aterosclerosis.⁸³ El hecho clave de la disfunción endotelial es una menor disponibilidad de óxido nítrico (NO), que puede deberse tanto a una disminución de su producción como a una mayor destrucción del mismo. El endotelio libera NO en respuesta a varias sustancias que estimulan los receptores acoplados a proteínas Gi sensibles a la toxina pertussis (serotonina, agonistas adrenérgicos α_2 y trombina) o a proteínas insensibles a esta toxina (ADP, bradicinina).^{84,85} Se ha demostrado que la LDL oxidada interfiere selectivamente con la primera de estas dos vías in vitro y que disminuye la expresión de NO sintasa endotelial, que sintetiza constitutivamente NO en el endotelio.^{86,87,88} Además, un incremento de la presencia de dimetil L-arginina asimétrica, un inhibidor endógeno de la NO sintasa endotelial cuyos niveles están aumentados en la hipercolesterolemia, puede potenciar estos mecanismos.^{89,90}

Otra vía que resulta en una menor disponibilidad de NO sería un aumento de su catabolismo. En condiciones fisiológicas, el NO se degrada reaccionando con el superóxido y la oxihemoglobina.⁹¹ En la aterosclerosis se ha observado un aumento de estrés oxidativo, con generación de superóxido por las oxidasas endoteliales.^{92,93,94} Además de reducir la disponibilidad de NO, esta reacción tiene otro efecto deletéreo. La reacción del NO con el superóxido produce peroxinitrito (ONOO⁻), que a bajas concentraciones tiene acciones similares al NO y puede actuar incluso como donante de esta molécula, pero en elevada cantidad es un potente oxidante.^{95,96,97,98} Este compuesto puede fragmentar proteínas por nitración de aminoácidos, causar toxicidad por radicales hidroxilo y formar ácido peroxinitroso, que es tóxico.^{99,100,101} Además, un aumento de síntesis de NO por la NOS inducible por citoquinas podría contribuir a elevar los niveles de peroxinitrito.¹⁰²

El sistema renina-angiotensina juega un papel importante en la disfunción endotelial. La angiotensina II (Ang II) es un potente agente oxidante, y aumenta la producción de anión superóxido tanto in vivo como in vitro, a través de la ruta metabólica de la NADH/NADPH (nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado/nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado reducido).^{103,104} Además, se ha sugerido que la Ang II podría regular a la baja la expresión de NO sintasa

endotelial a través de la vía de protein-kinasa C.¹⁰⁵ Así, un aumento de la Ang II tisular puede contribuir a un incremento de la destrucción de NO y a una reducción de su producción. De hecho, se ha visto que los fármacos que interfieren con el sistema renina-angiotensina mejoran la función endotelial y que en las lesiones ateroscleróticas hay un aumento de expresión del enzima convertidor de angiotensina.^{106,107}

Reclutamiento celular

En condiciones fisiológicas las lipoproteínas que entran en el espacio subendotelial vuelven a la sangre mediante un mecanismo de transporte invertido del colesterol en el que pueden estar involucradas las lipoproteínas de alta densidad (HDL).¹⁰⁸ Cuando hay disfunción endotelial, el aumento de permeabilidad vascular hace que la cantidad de LDL que entra en la pared del vaso exceda la capacidad del sistema de transporte invertido del colesterol para devolverla a la sangre. A esto se une el hecho de que algunos factores de riesgo, como la diabetes y el tabaco, reducen los niveles de HDL dificultando aún más el lavado de LDL.^{109,110,111,112} Además, en la diabetes hay glicosilación de las LDL, lo que impide que sean reconocidas por sus receptores y hace que se aclaren más lentamente de la sangre.^{113,114}

Todo esto, junto a la capacidad de los proteoglicanos de la pared arterial para retener las lipoproteínas, resulta en un aumento del tiempo de residencia de éstas en el espacio subendotelial. Aquí las lipoproteínas sufrirán una primera oxidación, facilitada por el hecho de que su unión a los proteoglicanos las hace más susceptibles a este proceso, dando lugar a las llamadas LDL mínimamente modificadas.^{115,116}

Estas LDL se unen al endotelio a través del receptor LOX-1 (lectin-like oxidized-LDL receptor-1) y esto, junto con el estado oxidativo existente en el medio, la Ang II y, probablemente, las menores fuerzas de rozamiento presentes en las áreas propensas a la aterosclerosis activan el factor nuclear- κ B (NF- κ B) mientras que moléculas protectoras como las HDL o el propio NO tienen el efecto opuesto).^{117,118,119,120,121,122}

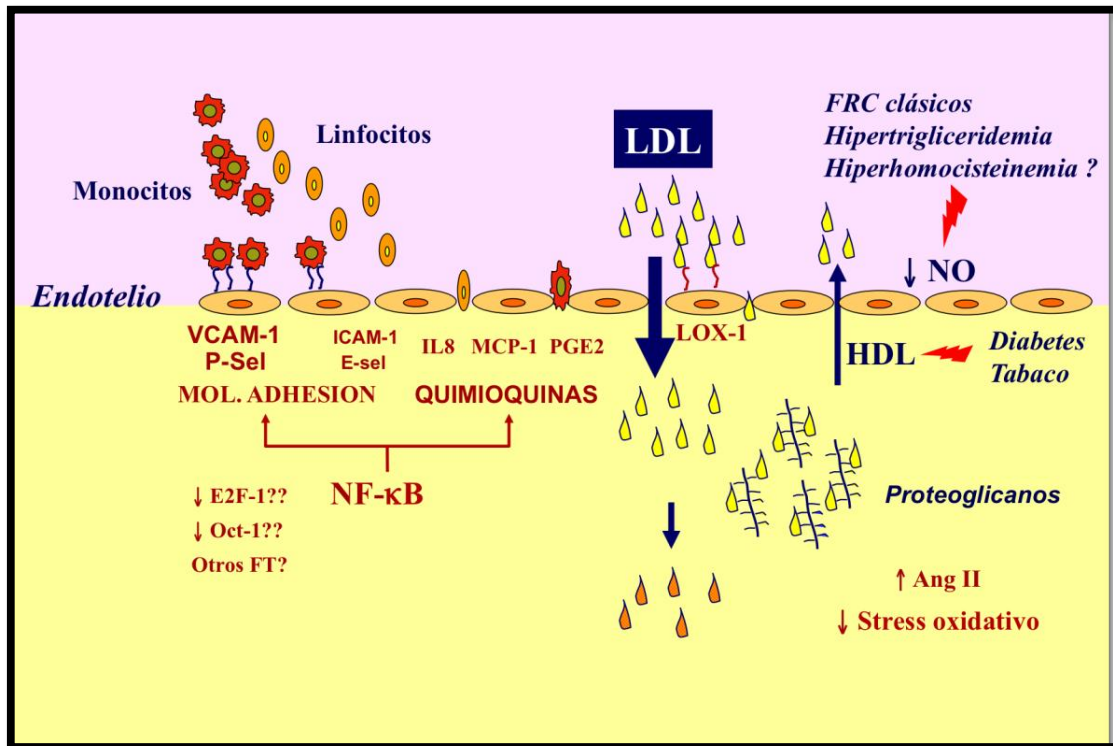


Figura 6. Esquema de la interacción de las diferentes citoquinas involucradas en la disfunción endotelial, en el que se aprecia la vía del NF-κB que estimula la síntesis y liberación de moléculas de adhesión (que favorecen la adhesión de células circulantes al endotelio y quimioquinas (que facilitan la entrada de los leucocitos en el endotelio)).¹⁰⁸ E-sel=Selectina E; FT=Factores de transcripción; P-sel=Selectina P.

Moléculas de adhesión y quimioattractantes

El factor NF-κB probablemente juega un papel clave en el proceso activando múltiples moléculas involucradas en la patogenia de la aterosclerosis.^{119,123} Entre éstas aparecen las moléculas de adhesión, llamadas así porque favorecen la adherencia de las células circulantes al endotelio. La VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) es probablemente la que más estrecha relación guarda con el proceso aterosclerótico, pues se une a la integrina VLA-4 (very late antigen-4), expresada por linfocitos y monocitos, es decir, por los dos principales tipos celulares que infiltran las lesiones. De acuerdo con esto, en modelos animales se ha objetivado la expresión de esta molécula por el endotelio en lesiones ateromatosas incipientes.¹²⁴ La ICAM-1 (intercelular adhesion molecule-1) podría ser, teóricamente, menos específica de esta entidad, ya que se une a más tipos de leucocitos e incluso es expresada en condiciones normales por el endotelio.¹²⁵ En el grupo de las llamadas selectinas, posiblemente la P-selectina tiene el papel más importante en la aterogénesis,

habiéndose detectado su expresión en el endotelio del ateroma humano.¹²⁶

Una vez que las moléculas de adhesión han conseguido fijar a los leucocitos sobre el endotelio, éstos son estimulados por citoquinas quimioattractantes, también llamadas quimioquinas, para hacer diapédesis y penetrar en la pared vascular (Figura 6). Posiblemente la más importante de éstas es el MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), que es expresada más intensamente en las lesiones ateroscleróticas que en el vaso sano y cuyo bloqueo limita el infiltrado linfomonocitario en ratones apo E.^{127,128} Se ha demostrado que el tratamiento con estatinas e inhibidores del enzima convertidora de Ang reduce su expresión en modelo de aterosclerosis de conejo.^{118,129} Otras quimioquinas, que estarían involucradas principalmente en el reclutamiento de linfocitos, serían las inducidas por la presencia de interferon- γ , que está presente en las lesiones: la MIG, (monokine induced by interferon- γ), I-TAC (interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant) e IP-10 (interferon-inducible protein-10).¹³⁰ Por último, los derivados del ácido araquidónico parecen tener importancia en este proceso. De un lado, el enzima proinflamatorio ciclooxigenasa-2 (COX-2), junto con la prostaglandina E₂ sintasa, median la producción de la prostaglandina quimioattractante E₂.¹³¹ Por otro, la lipooxigenasa-5 puede dar lugar al leucotrieno B₄, con capacidad quimioattractante, y a los cisteinilleucotrienos, que aumentan la permeabilidad vascular.¹³²

En el espacio subintimal, los monocitos se transforman en macrófagos que, en un proceso mediado por las lipooxigenasas que expresan, oxidarán más intensamente a las LDL mínimamente modificadas.¹³³ Este proceso es favorecido por la AngII, y la glicosilación previa de la LDL en diabetes que aumentan la susceptibilidad de estas lipoproteínas al proceso oxidativo.^{107,134,135} Los mismos macrófagos captan estas LDL oxidadas a través de sus receptores basurero (scavengerreceptors), habiéndose involucrado también a otros receptores, como el CD36 y la macrosialina. Este proceso es mediado por MCSF (macrophage colony stimulating factor) y potenciado por la Ang II. Los macrófagos así activados estimulan a su vez la expresión celular del enzima convertidora de angiotensina, y por tanto la síntesis de Ang II, cerrando así un círculo vicioso (Figura 7).^{92,107}

Además, estas células se replicarán, proceso también estimulado por MCSF y otras moléculas, como la IL-3 y el GMC-SF (granulocyte-macrophagecolony-stimulating factor). Dado que la captación de lípidos la realizan sin mecanismo de saturación, acaban por degenerar y se transforman en células espumosas sobrecargadas de grasa. Los macrófagos finalmente mueren y liberan lípidos, con los que formarán el núcleo ateromatoso, y sustancias tóxicas como enzimas, radicales libres y aniones superóxido.^{117,136} Estos productos lesionan el endotelio,

que pasará de ser simplemente disfuncionante a tener daño morfológico e incluso en algunas áreas quedará destruido.

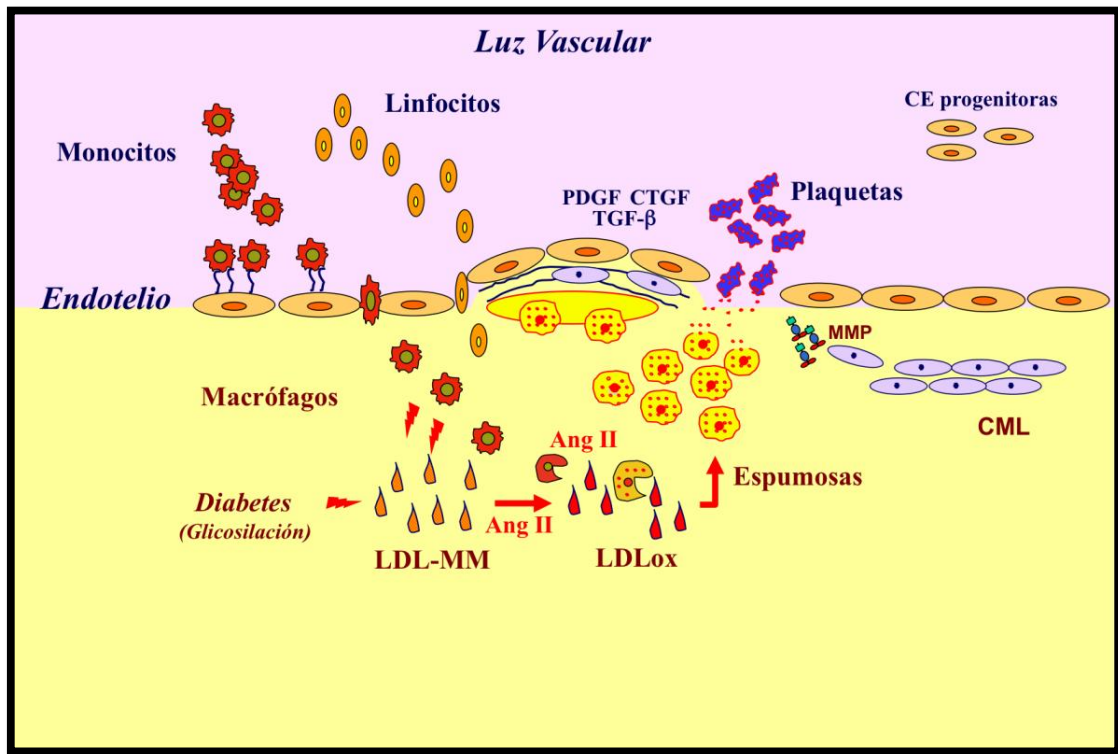


Figura 7. Fisiología del daño endotelial. El daño y ausencia endotelial dejarán expuesto el colágeno de la pared vascular a la sangre sobre el que se adhieren las plaquetas. Estas células, junto con los propios macrófagos segregarán los llamados factores de proliferación. Así, las células musculares lisas proliferan y migran al espacio subendotelial donde cubrirán el núcleo ateromatoso que se ha ido formando a expensas de lípidos extracelulares y células espumosas sobre todo. Además, producirán proteínas de matriz extracelular (colágeno, etc.) con las que formarán lo que será la cápsula de la lesión aterosclerótica.¹⁰⁸ CE=Células endoteliales

Formación de la cápsula fibrosa

La exposición del colágeno subyacente a la sangre y el estado protrombótico del endotelio disfuncionante estimulan la adhesión de plaquetas a la pared vascular. Estas células perpetúan la reacción inflamatoria estimulando la producción de citoquinas.¹³⁷ Además, liberan factores de crecimiento, junto con los macrófagos presentes en la lesión, como el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas). Estos factores inducen la proliferación y migración de las CML procedentes de la capa media de la arteria, que se unirán a otras habitualmente residentes en la íntima habiéndose sugerido recientemente que células progenitoras de la adventicia podrían diferenciarse también a CML.^{138,139,140,141} Esta fase

proliferativa es reforzada por un aumento de la Ang II y una reducción en la presencia de NO, que tiene efecto antiproliferativo.^{92,142,143,144,145} Las CML de la lesión ateromatosa muestran un fenotipo diferente a las normales, con mayor presencia de órganos secretores, como el retículo endoplásmico, y menor de fibras contráctiles.¹⁴⁶ Estas células liberan también factores de crecimiento, cubren el núcleo ateromatoso y, bajo el estímulo de PDGF, TGF- β (transforming growth factor- β) y CTGF (connective tissue growth factor) producen proteínas de matriz junto a las cuales constituirán la cápsula fibrosa.^{136,147,148,149} Las proteínas más frecuentemente encontradas en el ateroma son los colágenos I y III, varios proteoglicanos y, también, hay fibras elásticas. La cantidad de estas proteínas dependerá, no solo del nivel de síntesis de las mismas, sino del grado de destrucción que sufran, a cargo de las metaloproteinasas (MMP).¹⁵⁰ Estas enzimas serán además de gran importancia en el fenómeno de migración de CML, al ir disolviendo la matriz para que éstas puedan progresar, así como en el remodelado positivo que sufren los vasos cuando las lesiones son aún incipientes.^{151,152} Es de reseñar que, durante la evolución, puede existir calcificación de la placa favorecida por secreción de citoquinas como las proteínas morfogénicas óseas o la presencia de proteínas con residuos de ácido glutámico γ -carboxilo, que tiene capacidad de fijar el calcio y promueve la mineralización.

Finalmente, durante este proceso, la placa forma microvasos en probable respuesta a factores angiogénicos, entre otros, VEGF (vascular endothelial growth factor), oncostatina M y factores de crecimiento de fibroblastos (FGF).¹⁵³ Teóricamente estos microvasos pueden contribuir a la aterogénesis de dos modos. Primero, porque suponen una gran superficie de contacto con la sangre, a cuyo través pueden reclutarse más células inflamatorias. De hecho, el endotelio de estos vasos expresa más VCAM-1 que el que cubre la lesión.¹⁵³ Por otro, porque pueden ser el origen de hemorragias que constituyen un estímulo para la progresión de la placa.¹⁵⁴

Complicación de la placa aterosclerótica

Las placas pueden estar presentes en el árbol arterial en la tercera década de la vida.^{155,156} Una vez formadas pueden progresar lentamente, continuando el proceso aterosclerótico descrito. Sin embargo, también pueden crecer súbitamente si se complican con un trombo. En estos casos pueden producir un síndrome coronario agudo si el trombo ocluye de manera total o subtotal la luz vascular.¹⁵⁶ En los casos en que la oclusión no sea tan severa y no produzca síntomas inmediatos, el trombo

va a estimular una reacción fibrótica, favoreciendo la síntesis de colágeno por parte de las CML en respuesta a la producción de TGF- β , PDGF y otros mediadores liberados por las plaquetas.¹⁴⁷ Además, la presencia de trombina induce proliferación de estas CML.¹⁵⁷ Según el grado de estenosis que produzca la lesión resultante podrá ocasionar angina de esfuerzo o incluso ser asintomática. En este sentido, en las autopsias de sujetos fallecidos por causa no cardiovascular se ha observado que tienen lesiones coronarias con trombos antiguos organizados.¹⁵⁶ En un estudio que incluyó casi 4.000 autopsias de soldados norteamericanos, 98% varones, con una edad media de 25,9 años, se detectó que la prevalencia de presencia de aterosclerosis coronaria de cualquier magnitud fue del 8,5%, que era severa en un 2,3% y moderada en el 4,7%.¹⁵⁸ Aquellos sujetos con enfermedad coronaria tenían mayor prevalencia de dislipidemia, hipertensión, obesidad y mayor edad (30 años frente a 25, $p < 0,001$). Señalamos que en este artículo el tabaquismo no se asoció con mayor prevalencia de lesiones coronarias, quizá debido a la edad de los participantes. Así, este estudio muestra la edad temprana a la que aparecen tanto los factores de riesgo, como la propia aterosclerosis, en una población aparentemente sana y entrenada físicamente.

Es de interés clínico el hecho de que la mayor parte de los SCA se deben a complicaciones de placas que previamente no tenían estenosis severas, como se demostró en estudios en los que los pacientes con un SCA se habían realizado una coronariografía en los meses previos.^{159,160} Esto se debe, en gran medida, a que las lesiones leves y moderadas son más frecuentes que las severas. Por esta razón, aunque está descrito que las lesiones severas no muestran más datos de vulnerabilidad que las ligeras, individualmente, una lesión severa podría tener más posibilidad de ocasionar un IAM, posiblemente porque el tamaño de trombo necesario para causar una oclusión total es menor.¹⁶¹ Sin embargo, hay datos que sugieren que una lesión no severa podría ser especialmente peligrosa. Así, la ausencia de isquemia crónica en una lesión moderada hará que no se desarrolle circulación colateral que podría ser protectora en caso de oclusión. Por otra parte, se ha visto que las lesiones vulnerables hacen más frecuentemente remodelado positivo, (expansión del vaso) que las estables y es sabido que cuanto mayor es la luz vascular mayor es el estrés circunferencial sobre las placas.^{162,163} Esto supone que la ausencia de angina o de isquemia inducible en una prueba de provocación no descarta la posibilidad de que un paciente tenga alto riesgo de sufrir un SCA, lo que ha fomentado la investigación de nuevos abordajes de este problema como, por ejemplo, las técnicas de imagen no invasiva, o los biomarcadores plasmáticos.

Ruptura de la Cápsula Fibrosa

Aproximadamente el 75% de los SCA se debe a este mecanismo.^{156,164,165} La cápsula es una estructura rica en colágeno y otras proteínas de matriz extracelular que rodea el núcleo lipídico de las lesiones y les confiere resistencia mecánica a la ruptura.^{164,165} Si se rompe, la sangre contacta con este core lipídico, que es rico en factor tisular derivado de los macrófagos, y esto desencadenará una trombosis.¹⁶⁶ En consecuencia, todo lo que lleve a una reducción de la cantidad de colágeno, o de las CML que lo sintetizan, debilitarán la cápsula, haciéndola más propensa a la ruptura.

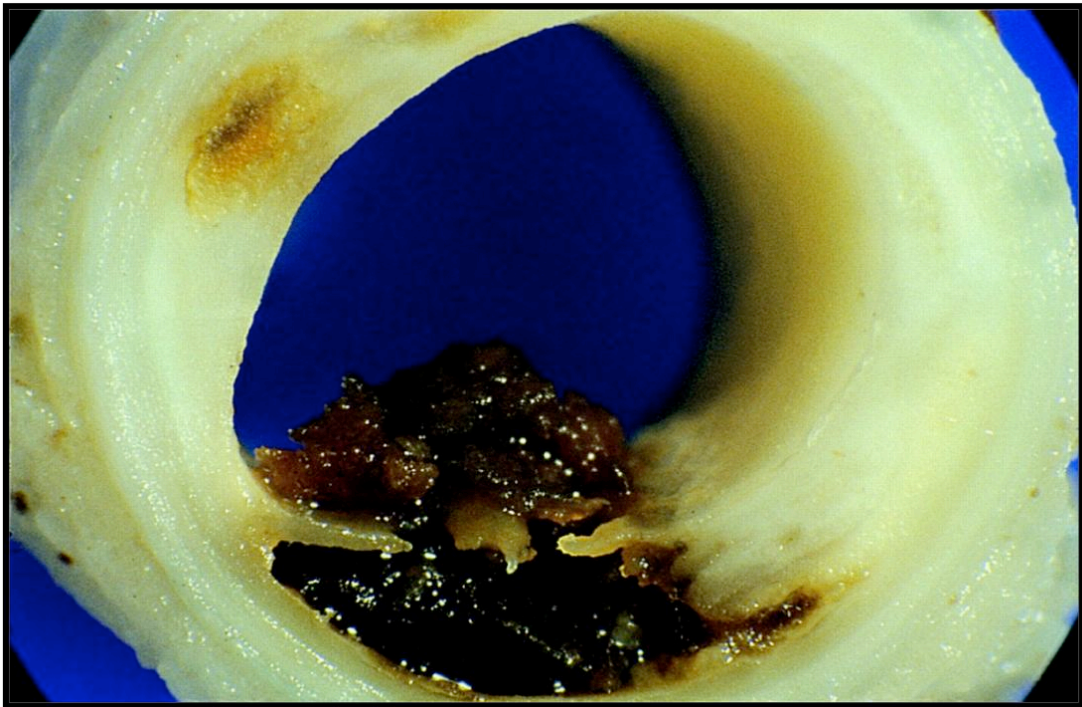


Figura 8. Fotografía de una placa aterosclerótica complicada. Obtenida de la referencia 163.

Aunque las fuerzas hemodinámicas son la causa última de ruptura de la placa, este proceso tiene lugar sobre todo en placas vulnerables. Así hay factores mecánicos que pueden aumentar la vulnerabilidad de la placa. Por ejemplo, el core lipídico no puede soportar la tensión ejercida por la sangre circulante y la redistribuye parcialmente hacia la cápsula fibrosa. Cuanto más grande es el núcleo y menor su consistencia, más cantidad de estrés es redistribuida hacia la cápsula.¹²⁶ Esta es pues, una de las razones por las que las lesiones ateroscleróticas con cápsulas fibrosas finas y de bajo contenido en colágeno son más propensas a la ruptura.^{126,165,167} Además de la mayor tensión circunferencial de las placas menos estenosantes, ya referida, también se ha sugerido que las placas situadas en las

regiones de arterias coronarias que sufren mayor flexión durante la sístole tienen más posibilidad de romperse.¹⁶⁸

Sin embargo, la ruptura de la cápsula no siempre aparece en las regiones de máximo estrés, sino que también sucede en otras áreas que han sido previamente debilitadas por factores biológicos, entre los que destacan la inflamación y la apoptosis.¹⁶⁹

Inflamación

La presencia de una reacción inflamatoria juega un papel determinante en la vulnerabilidad de las lesiones ateroscleróticas. Se ha visto que las placas responsables de un evento agudo están infiltradas más frecuentemente que las estables por macrófagos, linfocitos T y CML activadas.^{170,171} De acuerdo con esto, se ha comprobado que la temperatura de las placas causantes de SCA es mayor que la de las lesiones estables y que, además, las que tienen una mayor temperatura tras una angioplastia son más propensas a complicarse en el futuro.¹⁷²

Las células inflamatorias degradan la matriz extracelular por medio de enzimas como las MMPs, las collagenasas y gelatinasas entre otras, debilitándola.^{149,173,174} La regulación de las MMPs no sólo es transcripcional. Su actividad también se controla secretándolas como formas inactivas, junto con los llamados inhibidores tisulares de las MMPs (TIMPS), de modo que una disminución de estos inhibidores conllevará un aumento del grado de proteólisis en la placa. Por otra parte, puede haber una reducción de la producción de colágeno, tanto por macrófagos como por CML cuando son estimulados por interferón gamma.^{175,176}

En los últimos años se ha sugerido también que los mastocitos, células inflamatorias presentes principalmente en la adventicia, podrían estar implicadas en la inestabilidad de la placa por múltiples mecanismos, ya que pueden debilitarla activando MMPs, favoreciendo la generación de Ang II a través de la producción de quimasas, induciendo apoptosis de CML, e incluso facilitando el espasmo coronario por liberación de histamina.^{177,178} De hecho, estas células están presentes más frecuentemente tanto en la placa como en la adventicia de los vasos responsables de un SCA.^{179,180}

Todo lo comentado para la inflamación en el proceso de formación de la placa es aplicable a este estadio, ya que los mecanismos son similares. Entre las múltiples moléculas proinflamatorias cuya expresión regula al alza el factor de transcripción NF- κ B, se encuentran varias MMPs, como la MMP-1 y MMP-3.¹⁸¹ Acorde con esto, hay una mayor actividad de NF- κ B en placas coronarias responsables de un SCA

que en las estables y en los hombros de las placas de aterosclerosis carotídea.^{182,183} De especial interés en este proceso son el receptor CD40 y su ligando CD40L, que componen un mecanismo clave del sistema inmunológico. La unión de CD40L al receptor desencadena la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de la célula, a través de la vía de NF- κ B.^{184,185} Así, el bloqueo de esta vía con un anticuerpo anti-CD40L disminuye el infiltrado de macrófagos y aumenta la presencia de colágeno en la aterosclerosis experimental.¹⁸⁶

El posible papel de la inflamación en la complicación de la placa aterosclerótica ha sido reforzado además por estudios que han demostrado que en los SCA hay un aumento de los niveles plasmáticos de varias de las moléculas inflamatorias descritas, como MCP-1, moléculas de adhesión, varias MMPs, CD40L o del grado de actividad de NF- κ B en leucocitos circulantes, entre otros. Es más, incluso una elevación de varias de éstas en pacientes estables o sujetos sanos pueden predecir la aparición de un evento coronario agudo.^{187,188,189,190,191,192,193} En este sentido, se ha visto que la aspirina en prevención primaria es más efectiva precisamente en los sujetos con mayores niveles de proteína C reactiva.¹⁸⁹ Además, otros tratamientos efectivos en esta patología, como pueden ser las estatinas, y los inhibidores del enzima convertidor de angiotensina, reducen la inflamación en las placas de ateroma. Incluso el vino tinto reduce la inflamación en células circulantes en seres humanos.^{194,195,196,197,198}

Por último, es importante reseñar el vínculo existente entre inflamación y trombosis. Por ejemplo, NF- κ B regula al alza la expresión de factor tisular, presente en el núcleo lipídico de las lesiones y que es clave en la iniciación de la trombosis.¹¹⁹ Por otra parte, el ligando CD40L no solo se une a su receptor, sino que es capaz de hacerlo a los receptores IIb-IIIa de las plaquetas, dotando de mayor estabilidad al trombo.¹⁹⁹ Posiblemente en relación con esto, los fármacos bloqueadores de estos receptores son más efectivos en los pacientes con SCA que tienen niveles altos de CD40L.¹⁹³

Apoptosis

Este proceso fisiológico de suicidio celular está presente en las placas ateroscleróticas y podría tener un papel potencial en su complicación.^{200,201} Los macrófagos liberan MMPs y factor tisular cuando sufren apoptosis, lo que podría favorecer la ruptura y trombosis de la placa.^{202,203} Por otra parte, se ha sugerido que un aumento de la tasa de apoptosis de las CML debilitaría la placa, ya que ellas forman la cápsula de la misma y producen proteínas de matriz como el colágeno. De

acuerdo con esto, los especímenes de aterectomía coronaria de placas complicadas contienen más CML apoptóticas y menos cantidad de estas células que las placas estables.²⁰⁴ Más aún, recientes observaciones han puesto de manifiesto que hay más expresión de caspasa 3 activa, el enzima iniciador de apoptosis, en los hombros de placas ateroscleróticas de carótida extraídas por endarterectomía, es decir, en la región más vulnerable a la ruptura.^{175,194} En todo caso, los mecanismos reguladores del equilibrio entre formación y destrucción de la cápsula no están aclarados ya que, por ejemplo, el factor profibrótico CTGF al que nos hemos referido previamente es también capaz de inducir apoptosis de CML, con lo que es difícil saber cual es el efecto que prevalecerá sobre la producción de matriz extracelular.^{148,149,205}

Infección

A nivel experimental se han descrito múltiples mecanismos por los cuales varios microorganismos podrían inducir trombosis de la placa, como la producción de citoquinas, de factores protrombóticos o desencadenar reacciones de autoinmunidad por semejanza con algún componente de estos agentes a los de la pared vascular.^{206,207,208,209} Sin embargo, no hay una clara evidencia clínica de que la infección juegue un papel habitual en la aterosclerosis. Así, diversos estudios serológicos para *Chlamydia Pneumoniae* y Citomegalovirus han mostrado datos discordantes.^{206,210,211} Igualmente, los estudios que han ensayado tratamiento antibiótico, fundamentalmente contra *Chlamydia*, y han analizado su efecto en la incidencia de eventos coronarios agudos han arrojado resultados dispares.⁵¹⁻⁵⁵ Por tanto, cabe concluir que la infección no es un factor habitualmente presente en la formación y complicación de las placas ateroscleróticas, aunque no podemos descartar por completo que tenga un papel importante en algún subgrupo de casos.

Trombosis sin ruptura de placa

Este mecanismo se ha observado en una cuarta parte de los casos.¹⁶⁴ Conlleva una pérdida del endotelio que recubre las placas, exponiendo el colágeno a la sangre, lo que causa adhesión plaquetaria. En las placas avanzadas es habitual que haya cierta deposición de plaquetas que no ocasione síntomas y que, por los mecanismos explicados, induzca la proliferación de CML.²¹² Los estudios de autopsia muestran dos patrones posibles bajo la erosión. Van der Waal et al encontraron infiltrados inflamatorios similares a los presentes en los casos de ruptura de la cápsula,¹⁷⁰ mientras que Farb et al describen un alto contenido en proteoglicanos,

con CML próximas y, en cambio, escaso contenido lipídico e inflamatorio.²¹³ Este último cuadro se veía sobre todo en mujeres jóvenes y estaba relacionado con el tabaco, y menos con los niveles de colesterol. No se conoce el mecanismo de la trombosis en estos casos. Se ha sugerido que algún tipo de proteoglicano presente en las placas podría favorecer la trombosis.^{213,214} Otra posibilidad es que pueda deberse a un estado protrombótico sistémico. En este sentido es sabido que los leucocitos activados pueden transferir factor tisular activado a las plaquetas.²¹⁵ Por último, existe la posibilidad de que pueda haber una deficiencia de moléculas antitrombóticas, como la trombomodulina y la proteína C en las placas, facilitando la trombosis.²¹⁶ Son pues necesarias más investigaciones para dilucidar el mecanismo de la trombosis en estos casos. De todas maneras, estos datos nos llevan al concepto de una posible heterogeneidad en la fisiopatología de los SCA dependiendo de los factores de riesgo coronario que existan en cada caso.

1.4. ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO

La capacidad para predecir el riesgo a partir de las ecuaciones actuales es muy limitada ya que todavía se desconocen otros factores, genéticos o ambientales, que pueden influir en el curso de la enfermedad. Así mismo, las técnicas para la detección de enfermedad aterosclerótica actualmente en uso clínico son poco sensibles y específicas como herramienta de cribado en población general asintomática.

De la práctica clínica habitual sabemos que existe un gran abanico de posibilidades, que incluye desde pacientes asintomáticos, hasta los pacientes con SCA recidivantes. Entre estos grupos estarían también los pacientes que sufren un único SCA sin nuevas recidivas a lo largo de los años. Las nuevas guías europeas del manejo de la enfermedad coronaria estable recién publicadas hacen hincapié en la necesidad de estratificar el riesgo individual de cada paciente.²¹⁷

Para la estimación del pronóstico del paciente con SCA, se han validado diferentes escalas de riesgo como TIMI score, PURSUIT y GRACE score y para la prevención primaria, las escalas de Framingham y SCORE (Figuras 9 y 10).^{218,219,220}

Sin embargo, en el paciente coronario estable no hay escalas de riesgo validadas en la clínica. En una revisión publicada recientemente se incluyen como herramientas pronósticas probadas la historia clínica (síntomas de angina o IC, o presencia de enfermedad aterosclerótica no coronaria), alteraciones de la onda T o del segmento ST en el ECG basal, así como la presencia de bloqueo de rama izquierda y hemibloqueo anterior.²²¹ El test de esfuerzo ofrece valor pronóstico, puesto que los que presentan una capacidad funcional disminuida (<5 METS) tienen multiplicado el riesgo de muerte por cuatro en comparación con aquellos con mayor capacidad funcional (>10 METS). El número de lesiones coronarias y su severidad también tiene implicación pronóstica.

	PURSUIT score		TIMI Risk Score para SCASEST	GRACE	TIMI RISK SCORE PARA SCACEST
POBLACIÓN	AI/SCASEST		AI/SCASEST	Todos los SCA	SCACEST
Evento	Muerte	Muerte/IAM	Muerte/IAM/SCA		
Nº de elementos	9	7	6	9	8
Edad	X	X	X	X	X
Género	X	X			
Infarto previo o EC			X	X	X
DM y FRCV	X	X	X		X
Síntomas	X		X		
Peso					X
FC	x			X	X
HTA	X	X		X	X
IC	X	X		X	X
ECG	X	X	X	X	X
CKMB/Tn	X	X	X	X	
Creatinina				X	
ICP hosp				X	
Rx					X
Puntuación máxima	25	20	7	263	14
Estadístico C	0,81	0,67	0,67	0,81	0,78

Figura 9. Resumen de las diferentes escalas de riesgo clínico del SCA. AI: Angina inestable; CKMB: Creatinin kinasa-MB; DM: Diabetes Mellitus; EC: Enfermedad coronaria; ECG: Electrocardiograma; FRCV: Factores de riesgo cardiovascular HTA: Hipertensión arterial; IAM: Infarto agudo de miocardio; IC: cardiaca; FC: Frecuencia cardiaca; ICP: Intervencionismo coronario percutáneo; PURSUIT indica Platelet Glycoprotein IIb-IIIa in Unstable Angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy; Rx: Radiografía; SCA: Síndrome coronario agudo; SCACEST: Síndrome coronario agudo con elevación de ST SCASEST: Síndrome coronario agudo sin elevación de ST.²²¹

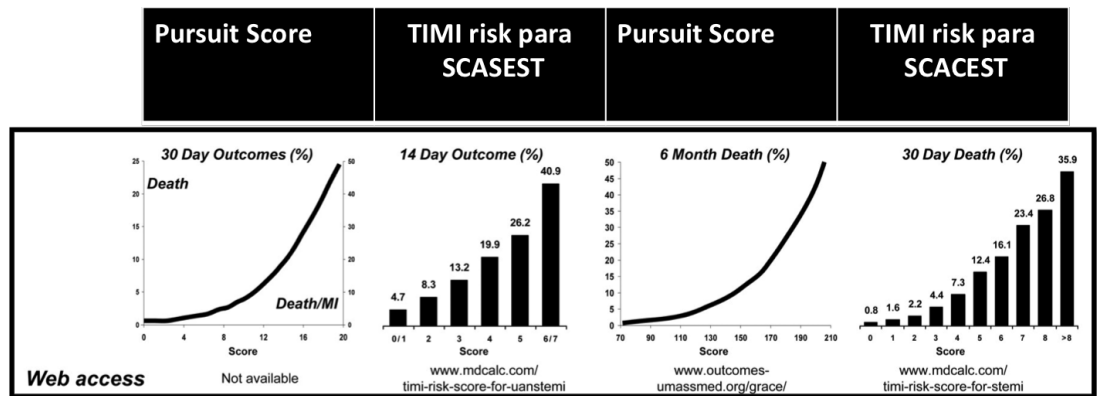


Figura 10. Valores de las diferentes escalas para los eventos estudiados.²²¹

Sin embargo, en el capítulo de biomarcadores, aunque se reconoce que hay marcadores que han probado tener valor pronóstico, como la troponina o la función renal, se incide en la falta de algoritmos para el manejo clínico basado en ellos. Incluso en las últimas guías americanas de actuación médica recién publicadas en el año 2012 sobre la enfermedad coronaria estable,²²² aunque reconocen la importancia capital de poder calcular el riesgo del paciente estable, se vuelve a constatar la ausencia de un modelo válido para este objetivo. Por ello recomiendan una estratificación basada en diferentes parámetros sociodemográficos, clínicos, y con diferentes pruebas que comentamos a continuación.

Dentro de los parámetros sociodemográficos estas guías destacan la edad como el principal factor pronóstico de este grupo. Los pacientes ancianos tienen mayor riesgo de sufrir enfermedad coronaria difusa y peor pronóstico, tanto intrahospitalario como a seis semanas tras el alta.²²³ Sin embargo se critica el valor pronóstico tanto del sexo como de la raza por ser hallazgos inconstantes en los diferentes estudios. También se menciona como factor pronóstico el nivel socio-económico bajo.

Como es sabido, y ya se ha comentado durante esta introducción, el padecer los factores de riesgo clásico además de la obesidad, la historia familiar temprana de cardiopatía isquémica y la vida sedentaria confiere mayor probabilidad de eventos cardiovasculares.^{224, 225, 226, 227} Desde el punto de vista cardiovascular los antecedentes de IC, enfermedad vascular periférica y enfermedad cerebrovascular ensombrecen la evolución.^{228, 229, 230} De la misma manera, la frecuencia de los episodios de angina, la extensión y localización de las lesiones coronarias y la gravedad de la cardiopatía, medida fundamentalmente como capacidad de ejercicio en un test de esfuerzo y como la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, son

factores desfavorables conocidos.^{231,232} También empobrecen el pronóstico factores tales como un soporte social inadecuado y un nivel importante de pobreza.^{28,226,233} Otros factores clínicos recogidos que afectan el pronóstico son la presencia de insuficiencia renal,³⁹⁻⁴² la enfermedad pulmonar previa (bronquitis crónica y Síndrome de apnea del sueño),^{58-62,234,235} y la depresión.^{236, 237}

Además, se pueden utilizar herramientas de cálculo del riesgo usando parámetros clínicos y analíticos habituales. Aunque hay varios niveles para predecir el riesgo de complicaciones y la supervivencia en pacientes asintomáticos tanto en población general como en pacientes con SCA, hay muy poca información sobre modelos para estratificar el riesgo en enfermedad coronaria estable. Existe la escala clásica de Framingham que predice el riesgo de padecer eventos coronarios a 10 años, teniendo en cuenta la edad, los niveles de colesterol total, el colesterol HDL, la presencia de hábito tabáquico, HTA y la DM.²³⁸ Lauer publicó un índice que incorpora datos de la historia y de test de ejercicio que reflejan el riesgo usando un normograma.²³⁹

Otro modelo sencillo, que se desarrolló hace más de dos décadas, incluye ocho características clínicas (angina típica, IAM previo, edad, sexo, duración de los dolores torácicos, HTA, DM, hiperlipidemia, hábito tabáquico, enfermedad carotídea y frecuencia de episodios de dolor torácico).²⁴⁰ Existe otro índice con menor complejidad incluso, que comprende cinco variables clínicas (edad, sexo, historia de IAM, presencia de angina típica, DM con o sin tratamiento con insulina). Se creó para predecir la existencia de enfermedad coronaria de tronco o tres vasos pero luego ha sido usada como escala de riesgo.^{241,242}

Sin embargo, en el ámbito de la enfermedad coronaria estable se han publicado 3 escalas. La clásica de D'Agostino, que incluyó a la población original de la cohorte de Framingham, y en la que analizó a pacientes que tenían antecedentes de cardiopatía isquémica o ictus previo, y que tiene en cuenta para varones la edad, el colesterol total/HDL, la diabetes y para mujeres, además, el hábito tabáquico y la HTA. Esta escala va dando puntos y predice el riesgo de un nuevo evento en 2 años.²⁴³ Una segunda escala publicada recientemente, denominada escala VILCAD, obtenida del estudio LURIC.²⁴⁴ En ella se tiene en cuenta la edad (≥ 75 años, 2 pts), la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (1 pto si existe disfunción moderada y 2 si es severa), la frecuencia cardíaca (≥ 75 lpm, 1 pto) y los niveles plasmáticos de creatinina ($\geq 1,3$ mg/dL, 1 pto), hemoglobina glicosilada ($\geq 6,5\%$ en pacientes con DM

conocida, 1 pto). Esta escala ha demostrado tener un excelente poder predictivo de supervivencia a 10 años. Por último, está publicada una escala clínica de riesgo para la enfermedad coronaria crónica basada en la población del estudio LIPID que demostraba el efecto beneficioso de las estatinas frente a placebo tras sufrir un IAM.²⁴⁵ Esta es la que hemos empleado en este trabajo para evaluar el riesgo clínico de nuestra población, al ser la más completa de todas. Será explicada en el apartado dedicado a los métodos.

Más allá de estos normogramas clínicos, existe alguna evidencia en el empleo de técnicas habitualmente diagnósticas en el pronóstico de la cardiopatía isquémica. En las guías americanas se recoge con indicación Clase IB la realización de un ecocardiograma de reposo para establecer la función ventricular sistólica y diastólica, que conocemos es un excelente factor pronóstico en cualquier patología cardíaca. Se pueden usar los diferentes test de estrés, con o sin imagen para obtener información pronóstica. Sin embargo, no hay una indicación clara actual de hacer estos protocolos en pacientes con enfermedad coronaria estable y paciente asintomático.

Algo similar ocurre con otras técnicas más modernas, como el angio TAC coronario, que está mostrando cierta utilidad en el proceso diagnóstico de pacientes con dolor torácico, pero que carece de recomendación para realizarlo en el paciente coronario estable.^{246,247}

En las guías europeas de 2013 se recomienda realizar como parte de la estratificación de los pacientes con enfermedad coronaria estable una evaluación clínica, que incluya la identificación de factores como la dislipemia, hiperglicemia y otros factores de riesgo y estudios cardiológicos como test de esfuerzo o visualización directa de las coronarias, ya sea con fines diagnósticos o pronósticos. Sin embargo, recomiendan que se tenga en cuenta la probabilidad pre test antes de realizar pruebas.²¹⁷

Hay que tener en cuenta que la realización de pruebas de modo indiscriminado puede no ser de ayuda. Como ya hemos comentado, los eventos coronarios agudos se precipitan por la trombosis súbita de una placa que, en la mayoría de los casos, previamente no ocasionaba estenosis severa.¹⁵⁹ Por tanto, una ergometría realizada en un paciente asintomático, unos días antes del evento agudo podría ser negativa (Figura 11). Igualmente, un angioTAC podría mostrar a lo sumo, estenosis coronarias moderadas días antes de desarrollar un SCA (Figura 12).

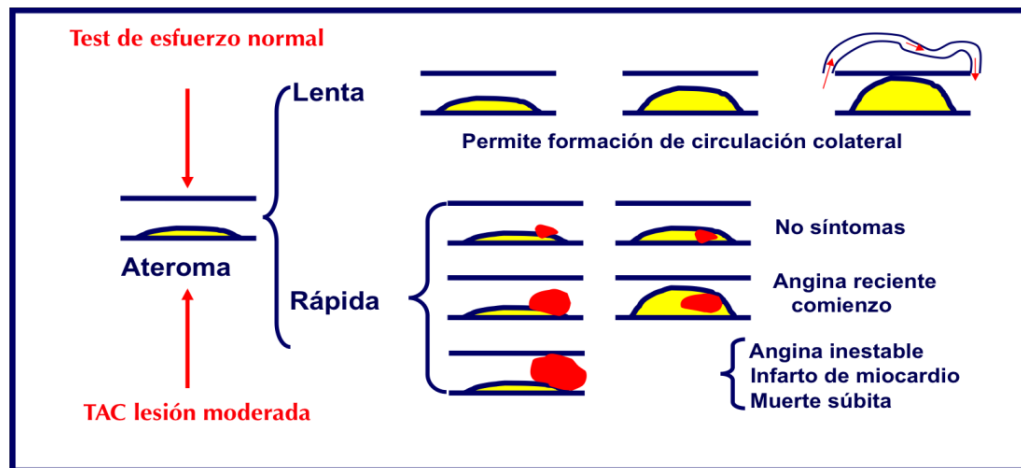


Figura 11. Progresión de una placa de ateroma. Un paciente con una estenosis moderada puede tener una ergometría normal y sufrir un síndrome coronario agudo en un breve lapso de tiempo. De la referencia 248

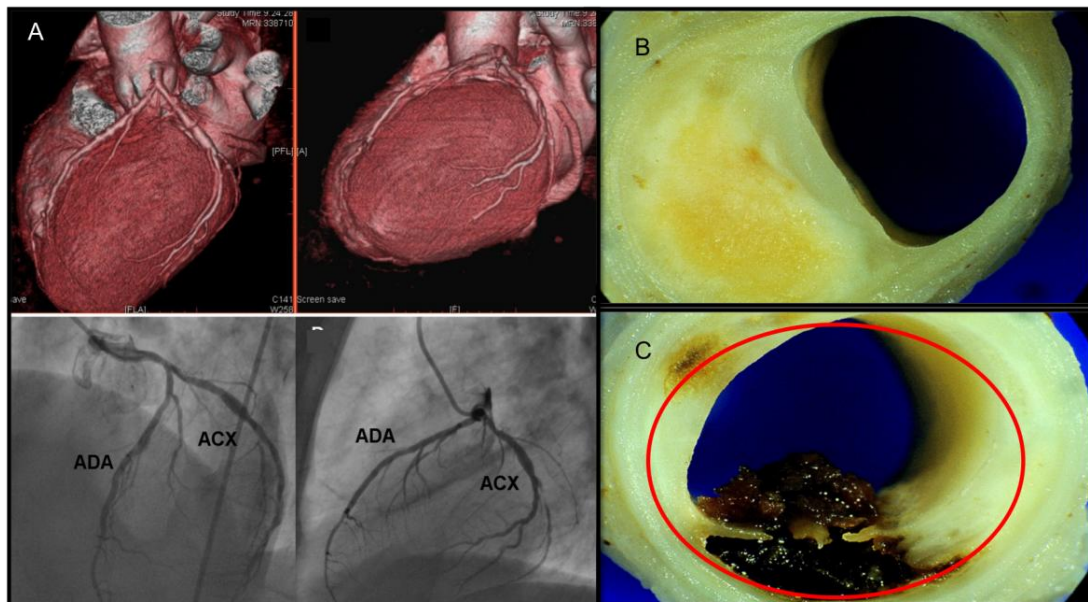


Figura 12. En el panel A se observa un cateterismo y una coronariografía con lesión moderada. En el panel B una lesión coronaria moderada no complicada. En el panel C una lesión complicada que era moderada antes de trombosarse y que una prueba de imagen la hubiera dado como “moderada”. Más del 50% de los IAMs se producen por lesiones antes calificadas como moderadas. Adaptado de la referencia 159,163 y 248.

En este contexto, los biomarcadores podrían ser de gran utilidad. Sin embargo, aunque se estima que pueden llegar a ser importantes, las guías indican acertadamente que hasta la fecha no hay literatura suficiente para incluirlos en los algoritmos.

1.5. BIOMARCADORES. ESTADO ACTUAL

Un prometedor abordaje en la estimación pronóstica de la enfermedad cardiovascular es el empleo de biomarcadores plasmáticos. Éstos no son otra cosa que moléculas transportadas por la sangre que pueden proceder de la pared vascular, donde han sido sintetizadas por las células participantes en la producción y desarrollo de la enfermedad aterosclerótica. En otros casos son moléculas que se dirigen a la pared vascular, influyendo sobre el proceso aterogénico, como puede ser el colesterol LDL.

En la actualidad, varios marcadores se han relacionado con el pronóstico del SCA a corto-medio plazo. Sin embargo, existe muy poca evidencia acerca de la utilidad de estos biomarcadores en pacientes con enfermedad coronaria crónica tanto sobre la información que aportan en el pronóstico de nuevos eventos, como sobre la mortalidad a medio plazo. Entre los biomarcadores más estudiados podemos citar los siguientes:

- Troponina. En la fase aguda del IAM la elevación de troponina T indica un aumento de la mortalidad a 30 días, tanto más cuánto más se eleva (1.1% vs 7.4% comparando el primer con el 4º cuartil).²⁴⁹
- CPK-MB. La CK-MB también se relaciona con el pronóstico del SCA.^{250,251} La mortalidad se multiplica por cuatro a los 30 días y por 3 a los 6 meses cuando el pico de CK-MB se eleva por encima de 10 veces el límite superior de la normalidad.²⁵⁰
- PCR. Es un reactante de fase aguda. El nivel basal de inflamación de una persona medido por la concentración de PCR, se ha asociado al riesgo a largo plazo del primer evento de IAM, ictus o enfermedad arterial periférica.^{252,253,254,255} Incluso se ha sugerido que el uso de los niveles de PCR de alta sensibilidad pueden ayudar en el manejo y terapia para la prevención primaria.^{256,257,258,259} Además se asocia con un peor pronóstico a corto y largo plazo en pacientes con SCA.²⁴⁹ Sin embargo, hay estudios que muestran que su poder predictivo es realmente escaso.^{260,261}
- El sistema CD40-CD40L, formado por el receptor CD40 y su ligando CD40L, también conocido como CD154, juega un papel clave en el proceso aterosclerótico. Aunque en un principio se describió en los linfocitos, más recientemente se ha visto que muchas otras células lo expresan, incluyendo las implicadas en la aterosclerosis,²⁶² y se ha comprobado la expresión del

receptor y su ligando en lesiones ateroscleróticas humanas.¹⁸⁴ Dada la implicación del sistema de CD40 en la inflamación, también se ha intentado analizar si se podría obtener información pronóstica de su estudio. El CD40L se sobreexpresa en las plaquetas de pacientes con un SCA.²⁶³ Se evaluaron los niveles basales de CD40L soluble en una población de pacientes con SCASEST que iban a ser sometidos a angioplastia por isquemia recurrente pertenecientes al estudio CAPTURE, en el que se comparaba el uso de abciximab frente a placebo.¹⁹³ Se objetivaron tres hechos importantes. El primero, que los pacientes del grupo placebo con niveles de CD40L elevados tenían más probabilidad de presentar muerte o IAM no fatal que el resto durante los seis meses siguientes. El segundo, que el valor predictivo de CD40L era independiente de los niveles de Troponina T, ya que, incluso en los que no elevaban este marcador, los valores de CD40L seguían teniendo valor pronóstico. Por último, abciximab reducía el riesgo de eventos en los sujetos con niveles elevados de CD40L, igualándolos con el del grupo que tenía valores bajos, mientras que estos últimos no se beneficiaban del uso de este bloqueador de los receptores IIb/IIIa. Estos hallazgos podían estar relacionados con el hecho de que CD40L confiere una mayor estabilidad al trombo cuando se une a los receptores plaquetarios IIb/IIIa, por lo que los pacientes con niveles mayores se beneficiarían especialmente de los bloqueadores IIb/IIIa.¹⁹⁹

Otro estudio de pacientes con SCASEST, el estudio OPUS-TIMI16, ha confirmado el valor predictivo de CD40L independientemente de los niveles de PCR y de troponina I.²⁶⁴ En prevención primaria en mujeres del Women's Health Study se observó que la mediana de los valores de CD40L soluble en plasma era mayor en las que presentaban eventos cardiovasculares a lo largo de un seguimiento de 4 años.²⁶⁵ Sin embargo, la mayor parte de las que tuvieron eventos presentaba niveles similares a las que permanecieron estables, y la diferencia se debía a un pequeño subgrupo que sí tuvo valores de CD40L claramente más elevados. Por tanto, no parece que en este tipo de población el CD40L soluble pueda distinguir claramente a las personas que tienen especial riesgo de eventos cardiovasculares. En resumen, los niveles de CD40L soluble parecen ser más eficaces para valorar el riesgo en situaciones agudas que en prevención primaria. Por otra parte, hay aun una falta de estandarización en las medidas de los mismos, y los niveles varían claramente

de unos estudios a otros. Por tanto no es posible usar el CD40L como biomarcador pronóstico actualmente.

- Moléculas de adhesión. Hay múltiples moléculas que se han relacionado con el proceso de la aterosclerosis. Entre ellas quizá las más estudiadas son las ICAM-1 VCAM-1. Sin embargo, en el momento actual, las moléculas de adhesión no parecen ser los marcadores ideales de riesgo, sobre todo si tenemos en cuenta el metaanálisis efectuado por Malik et al y los bajos límites inferiores de los intervalos de confianza descritos en el estudio BIP (Bezafibrate Infarction Prevention).^{266,267}

Dentro de su limitado valor, la VCAM-1 parece ser la más valiosa en los pacientes con enfermedad coronaria demostrada, mientras que no daba resultados positivos en el ámbito de la prevención primaria, donde sí lo hacía la ICAM-1. Fisiopatológicamente esto no tiene una clara explicación, pues la VCAM-1 parece jugar un papel más importante en la aterosclerosis que la ICAM-1, al ser selectiva para linfocitos y monocitos, los principales tipos celulares que infiltran la placa de ateroma.^{124,125,126}

- Mieloperoxidasa. Niveles altos de esta enzima leucocitaria, que es secretada durante la inflamación aguda y que promueve la oxidación de lipoproteínas, se asocian con la presencia de enfermedad coronaria y pueden predecir la aparición de SCA en sujetos con dolor torácico.²⁶⁸ Un estudio de pacientes con cardiopatía isquémica remitidos para coronariografía diagnóstica demostró que los que tenían un polimorfismo del gen de la mieloperoxidasa que se asocia a una mayor expresión de la misma presentaban más eventos cardiovasculares.²⁶⁹

En 604 pacientes que acudían a Urgencias por dolor torácico en los que se sospechaba un SCA,²⁷⁰ los niveles de mieloperoxidasa elevados predecían no solo la posibilidad de que el paciente estuviera sufriendo un IAM al ingreso, sino la de presentar un IAM, muerte o precisar revascularización en seis meses. Esto era así tras ajustar para aquellos factores que en los análisis univariados se asociaban con los niveles de esta enzima, como la edad, sexo, PCR, historia de IAM, revascularización o hiperlipidemia y cambios de ECG sugestivos de SCA. Es más, a diferencia de lo que ocurría con la PCR, mantenía su valor predictivo incluso en los pacientes que tenían troponina T normal.

Los niveles de mieloperoxidasa también se han evaluado en una población de más alto riesgo, como eran los pacientes del ya comentado estudio CAPTURE.²⁷¹ En los 547 pacientes del grupo placebo los niveles de este enzima indicaban riesgo de muerte o IAM, separándose las curvas a las 72 horas y manteniéndose estable la diferencia hasta el seguimiento máximo, que fue de seis meses. En análisis multivariado no perdía su capacidad predictiva, ajustando para los FRC, historia previa de SCA o revascularización, niveles de troponina T, PCR, recuento leucocitario y CD40L entre otros. La mieloperoxidasa añadiría por tanto capacidad de predicción no solo a la troponina, sino también al CD40L. Esto es importante, ya que en esta misma población el CD40L también tenía valor pronóstico independiente de la troponina. Así, ambos marcadores podrían aportar poder predictivo a los ya utilizados. Sin embargo, en sujetos sanos y con cardiopatía isquémica estable no hay datos consistentes que confirmen su valor pronóstico.

- PAPP-A (Pregnancy-Associated plasma protein-A). Se trata de una MMP que se identificó inicialmente en el plasma de las mujeres embarazadas. Sin embargo, se ha visto que también está presente en diversos tejidos fuera de la placenta humana. Así, en autopsias humanas se ha observado que se expresa en las placas ateroscleróticas que han sido responsables de un SCA, mientras que no lo hacía en las placas estables.²⁷² En ese mismo trabajo se vio que los valores de la PAPP-A están aumentados en el SCA. Más recientemente se ha visto que la PAPP-A tiene valor predictivo. En los pacientes con SCA del estudio CAPTURE se encontró que el nivel de esta proteína era capaz de predecir el riesgo de muerte o IAM incluso en el subgrupo que tenía troponina T normal.²⁷³ Además, confirmaron prospectivamente el valor predictivo de la PAPP-A en una población de 644 pacientes que acudían a Urgencias por dolor torácico, de los que aproximadamente la mitad fueron diagnosticados finalmente de SCA. Nuevamente, faltan datos firmes en relación con la cardiopatía isquémica crónica.
- Interleukina 6 (IL-6). Aunque es la principal inductora de la síntesis hepática de la PCR, su comportamiento no es idéntico al de esta proteína. Por ejemplo, mientras el tratamiento con estatinas reduce consistentemente los valores de PCR en diversas situaciones clínicas, los niveles de IL-6 descienden en algunos estudios pero permanecen constantes en otros.^{274,275} Por tanto, podría aportar datos diferentes a los de la PCR. En 2.225 personas de 70 a 79 años sin enfermedad vascular o IC de base pertenecientes al estudio prospectivo de

cohortes ABC, los valores de IL-6 eran predictores de enfermedad coronaria, IC e ictus durante un seguimiento de 3,6 años.²⁷⁶ Esta capacidad predictiva se mantenía cuando se restringía el análisis a sujetos sin FRC tradicionales. Es más, algunos de estos FRC, como los niveles de colesterol total y LDL elevados, y el tabaquismo o la HTA no eran predictores de eventos coronarios o ictus en esta población. Esto podría sugerir que los FRC convencionales pierden su capacidad predictiva con la edad, quizá porque no juegan un papel tan predominante en la evolución de la enfermedad como en pacientes más jóvenes y aumenta la necesidad de nuevos marcadores pronósticos en esta población.

Igualmente, otro estudio testó el valor predictivo de la IL-6 en 620 mujeres, con problemas de movilidad que fueron incluidas independientemente de sus antecedentes cardiovasculares y fueron seguidas durante 3 años.²⁷⁷ Los niveles elevados de esta citoquina predecían una mortalidad total aumentada, incluso tras ajustar para la existencia de otras enfermedades crónicas y la tolerancia al ejercicio, pero únicamente tenía valor significativo en las que tenían patología cardiovascular de base.

- Anticuerpos frente a LDL oxidada. En sujetos sanos, los complejos inmunes circulantes y autoanticuerpos frente a las lipoproteínas de baja densidad y cardiolipina predicen la aparición de IAM en los siguientes 20 años.²⁷⁸ En pacientes con enfermedad cardiovascular conocida, un título elevado de anticuerpos frente a la lipoproteína de baja densidad oxidada predice la progresión de la aterosclerosis a 6 meses.²⁷⁹
- Factores de coagulación. Se han asociado con aumento de riesgo cardiovascular los niveles de plasma de fibrinógeno,²⁸⁰ los de dímero D,²⁸¹ los valores bajos de trombomodulina (una proteína de la membrana que tiene un papel principal en la coagulación intravascular con una actividad anticoagulante),²⁸² el aumento de la actividad del factor de coagulación XI y la disminución del XII.²⁸³
- Fosfolipasa A2. Se trata de un enzima que hidroliza los fosfolípidos en productos proaterogénicos. Se ha visto recientemente que los niveles de este enzima son reducidos por el tratamiento con estatinas.²⁸⁴ Es uno de los marcadores con más información robusta y que ha mostrado su poder pronóstico en varios ensayos como predictor de eventos, en especial en varones hipercolesterolémicos de alto riesgo.^{285,286,287,288} Esto hizo que se

utilizara incluso en clínica como factor pronóstico. Posteriormente se publicó algún ensayo que no obtuvo resultados positivos.²⁸⁹ Por todo ello, todavía no se ha estandarizado su uso.

- Otros marcadores. Se han relacionado otros marcadores inflamatorios, aunque con menos evidencia que los anteriores descritos. Así, hay publicaciones que han estudiado la relación con un aumento del riesgo de mortalidad cardiovascular tanto en pacientes con SCA como aquellos que están en tratamiento con hemodiálisis con los niveles bajos de homocisteína, que es el aminoácido que sirve como precursor del óxido nítrico.²⁹⁰ También se han relacionado con la enfermedad cardiovascular los niveles de leucocitos, la velocidad de sedimentación, el factor de transcripción nuclear NF-κB, las interleukinas 10 y 18 y el factor de necrosis tumoral alfa y los niveles de leptina. Esta última es una proteína que juega un papel fundamental en el metabolismo de la grasa y se relaciona con la resistencia insulínica y otros marcadores del síndrome metabólico. Además, ha mostrado en el estudio WOSCOPS ser predictora de eventos de enfermedad cardiovascular ajustado al peso y otros factores de riesgo.^{291,292,293,294,295,296,297,298,299,300}

El estudio de marcadores se ha llevado a cabo, principalmente en la fase aguda de un SCA mientras que en cardiopatía isquémica crónica la información es mucho menor. Además, muy pocos de estos marcadores salvo la troponina y los niveles lipídicos, se emplean en la clínica. Por tanto, es necesario investigar biomarcadores que puedan ayudar a estratificar el pronóstico de estos pacientes.

1.6. EL RIESGO GLOBAL EN EL PACIENTE CORONARIO

Los pacientes con cardiopatía isquémica crónica no sólo fallecen por eventos cardiovasculares, sino que están expuestos en función de la edad y el perfil clínico, a otras patologías como el cáncer, la enfermedad renal o las infecciones. Así, por ejemplo, en el estudio 4S, que incluyó a 4.444 pacientes con enfermedad coronaria, en 5 años de seguimiento hubo 438 muertes, y de ellas 95 (21.6%) fueron muertes catalogadas como “no coronarias”.³⁰¹ Una publicación reciente sugiere incluso que en pacientes con IC el riesgo de cáncer aumentaba hasta un 68% después de ajustar por otros factores de riesgo como tabaquismo y masa corporal.³⁰²

Por tanto, buscar solamente biomarcadores relacionados con la enfermedad cardiovascular puede llevarnos a una visión limitada del problema. Por otra parte, los eventos del paciente coronario no son únicamente trombóticos. La existencia de afectación ventricular puede ocasionar IC y arritmias ventriculares que pueden ser letales.

En esta Tesis nos proponemos estudiar el valor de un panel de biomarcadores relacionados no solo con la enfermedad aterotrombótica, sino también con la afectación ventricular y con otras patologías. Estos son los biomarcadores a estudiar:

- BNP/ProBNP. Es una hormona natriurética relacionada con la expansión de volumen y el estrés parietal de las cavidades cardiacas, en especial el VI. Por ello se ha utilizado principalmente para el diagnóstico de IC.³⁰³ Sin embargo, también se ha asociado el nivel sérico de BNP y NT-Pro-BNP con la incidencia de muerte y eventos cardiovasculares en sujetos asintomáticos sin IC. En el estudio de Wang,²⁵² se siguieron 3.346 pacientes con media de edad 59 años, asintomáticos sin IC y sólo 13 pacientes tenían antecedentes de cardiopatía (isquémica o valvular). Los niveles de plasma superiores al percentil 80 se asociaban a desarrollo de IC (HR 3.07), así como a aumento de la mortalidad total, la fibrilación auricular y el ictus. La capacidad del NT-proBNP para predecir eventos cardiovasculares fue evaluada en el estudio de Kirstorp.³⁰⁴ En él se reclutaron 537 personas sin antecedentes de enfermedad cardíaca o renal. Los pacientes del percentil superior a 80 tuvieron un riesgo mayor de eventos cardiovasculares y muerte (HR ajustado de 3.24), superando en este sentido a la PCR, que también fue medida. El BNP tiene una importancia demostrada en el pronóstico del paciente con SCA.³⁰⁵ Unos resultados similares se han obtenido con el proBNP.³⁰⁶ Algún estudio ha

demostrado que el nivel plasmático de BNP también tiene un valor pronóstico en la angina. En un estudio en el que se incluyeron 1.085 ptes con enfermedad coronaria previa se les determinaron los niveles basales de BNP. Tras 2,5 años de seguimiento se observó que los niveles de BNP eran mayores en aquellos que volvían a tener nuevos eventos, entendido como IAM no fatal y muerte cardiovascular (119 pg/ml vs 36pg/ml); $p \leq 0.001$). Tras ajustar para factores de confusión, incluyendo la función sistólica del ventrículo izquierdo, los pacientes en el cuartil superior (BNP > 100 pg/mL) tuvieron un riesgo 6 veces mayor de tener eventos cardiovasculares que aquellos que estaban en el cuartil inferior (BNP < 12 pg/mL). Un valor de corte por encima de 100 pg/mL se relacionó con un mayor riesgo de tener un evento cardiovascular con un HR de 4.4.³⁰⁷ En resumen, es un marcador con robusta literatura que apoya su uso en el diagnóstico y en el pronóstico de la IC. Sin embargo, su utilidad en el pronóstico la enfermedad coronaria crónica todavía está en discusión.

- MCP-1. (Monocyte Chemoattractant Protein-1). Es un marcador de inflamación y aterosclerosis. Es una quimioquina que controla la entrada de los leucocitos al interior de la pared vascular. Hay unas 40 quimioquinas en total, divididas en 4 familias, siendo las dos más numerosas las α y las β -quimioquinas. Las primeras se caracterizan porque hay un aminoácido que separa los dos primeros grupos cisteína y son quimioattractantes para neutrófilos o linfocitos; entre ellas están las interleuquinas (IL). Las β -quimioquinas, tienen los dos residuos cisteína adyacentes y atraen monocitos y linfocitos, además de basófilos y eosinófilos, pero no neutrófilos. A esta familia pertenece el MCP-1. Se trata probablemente de la quimioquina más importante en el proceso aterotrombótico. Se expresa más intensamente en las lesiones ateroscleróticas que en el vaso sano y su bloqueo limita el infiltrado linfomonocitario en modelo de ratones apo E.^{127,128} Nuestro grupo ha demostrado que el tratamiento con estatinas e IECA reduce su expresión en modelo de aterosclerosis de conejo.^{118,195}

En el estudio OPUS-TIMI 16 se analizó la capacidad pronóstica de MCP-1 en 2.270 pacientes con SCASEST. Los niveles plasmáticos de MCP-1 predecían el riesgo de muerte o IAM a 10 meses, incluso tras ajustar para edad, FRC clásicos, historia previa de cardiopatía isquémica, aclaramiento de creatinina, grado de desviación del segmento ST en el ECG y niveles de Troponina I y de PCR.¹⁹² A pesar de esto, la literatura es escasa en esta

área y no se usa en la práctica clínica.

- Galectina-3 es miembro de la familia de las lectinas. Es capaz de unirse a las Beta-galactosidasas. Está envuelta en diferentes procesos, como reacciones inmunes, transformación neoplásica y metástasis.³⁰⁸ También juega un papel importante en la fibrosis cardíaca y en el remodelado³⁰⁹ y predice mortalidad y severidad de la IC y la enfermedad renal en los pacientes con IC.^{310,311} Se estudiaron los niveles plasmáticos de Galectina-3 en la población el estudio PROVE IT-TIMI 22.³¹² Los pacientes que desarrollaron IC tenían mayor nivel de Galectina-3. Esta asociación seguía siendo significativa tras ajustar para otros factores como HTA, DM, IAM previo e IC previa. Sin embargo, los resultados disponibles hasta el momento no avalan su uso en la práctica clínica.
- NGAL es un marcador relacionado con la activación de los neutrófilos. Se ha demostrado que hay niveles elevados en pacientes con aneurisma de aorta,³¹³ con insuficiencia renal³¹⁴ y con IC.³¹⁵ En el momento actual se ha utilizado en clínica para diagnosticar la insuficiencia renal aguda e IC. Se trata de un marcador de neoplasias, daño renal, así como de fibrosis e IC.^{308,310} Pero nada se sabe de su posible valor predictivo en enfermedad coronaria crónica.
- TWEAK. Es un marcador de la familia del TNF (TNFSF12), que promueve la respuesta proinflamatoria y la apoptosis a varios niveles y la aterotrombosis, pero en especial en las células renales. Se ha apreciado que en pacientes con lesiones vasculares conocidas, tales como placas en carótidas, los niveles séricos de TWEAK son menores que en pacientes sin dichas lesiones, e incluso se asocian inversamente proporcional con el grosor de la carótida, que es otro marcador de aterosclerosis.³¹⁶ Por estas razones es de interés su posible valor pronóstico.
- Además usaremos la PCR como referencia dada la gran cantidad de estudios realizados con ella.

1.7 RECAPITULACIÓN

La enfermedad coronaria tiene un enorme impacto en nuestro medio por su gran incidencia, la morbimortalidad que asocia y la ingente cantidad de recursos de todos los órdenes que consume.

En los últimos años se ha conseguido mejorar el tratamiento de la enfermedad coronaria. El aumento de supervivencia de nuestros pacientes hace que haya una gran prevalencia de personas con enfermedad coronaria crónica. A pesar de que estas personas pueden desarrollar eventos coronarios agudos o incluso fallecer, no hay escalas de riesgo o biomarcadores unánimemente aceptados que nos digan qué paciente tiene mal pronóstico para que podamos centrar en él recursos para prevenir nuevos eventos. Dado que muchos de los pacientes que sufren de nuevo un SCA pueden fallecer antes de llegar al hospital es clave identificar aquellos de alto riesgo para intensificar el tratamiento y estrechar su seguimiento.

Basados en trabajos previos de nuestro grupo a nivel de investigación básica hemos seleccionado un panel de potenciales biomarcadores que hemos testado en una población de 706 pacientes con enfermedad coronaria crónica. Como dato de interés, alguno de ellos tiene también relación con el cáncer o la insuficiencia renal. Esto es positivo en nuestra opinión, porque la mortalidad de este tipo de pacientes no se debe exclusivamente a eventos vasculares, sino que pueden tener un papel tanto en el daño ventricular como en la coexistencia de otras patologías, como las referidas.

2. HIPÓTESIS

1. Los niveles plasmáticos de MCP-1, molécula clave en el reclutamiento de células inflamatorias en la placa aterosclerótica, son predictores independientes del desarrollo de eventos trombóticos agudos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
2. Los niveles elevados de NT-ProBNP y de Gal-3, NGAL o TWEAK se asociaran de modo independiente al desarrollo de IC o muerte.
3. El desarrollo del objetivo combinado compuesto por recurrencia de eventos trombóticos agudos, IC o muerte será predicho por una combinación de biomarcadores integrada por MCP-1, pro-BNP y otros involucrados en otras patologías como el cáncer o la insuficiencia renal, entre los que podrían estar galectina-3, NGAL o TWEAK.
4. La escala clínica de riesgo derivada del estudio LIPID, que es la más completa publicada para cardiopatía isquémica crónica, debería de tener cierto valor pronóstico en nuestra población. No obstante, este valor podría ser limitado porque esta escala se ha generado en una población de diferente origen a la española.
5. La adición de la información proporcionada por los biomarcadores que resulten tener valor predictivo independiente a la escala de riesgo clínica derivada del estudio LIPID incrementará la capacidad pronóstica de esta última.
6. Los niveles de PCR de alta sensibilidad, cuyo papel en la aterogénesis no es clave y sobre la que hay datos dispares en estudios previos, no jugarán un papel relevante en la predicción del riesgo de desarrollar ninguno de los eventos anteriores.

3. OBJETIVOS

1. Estudiar si los niveles plasmáticos de MCP-1 son predictores independientes del desarrollo de eventos trombóticos agudos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
2. Estudiar si los niveles plasmáticos de MCP-1, NT-ProBNP, Galectina-3, NGAL o TWEAK son predictores independientes del desarrollo del objetivo compuesto de IC o muerte.
3. Analizar si el desarrollo del objetivo principal compuesto por recurrencia de eventos trombóticos agudos, IC o muerte es predicho por una combinación de biomarcadores integrada por MCP-1, pro-BNP, y alguno de los siguientes: galectina-3, NGAL o TWEAK.
4. Estudiar el valor pronóstico que tiene la escala clínica derivada del estudio LIPID en nuestra población.
5. Analizar si la capacidad predictiva de la escala LIPID mejora al añadir los datos del panel de biomarcadores estudiados.
6. Valorar la capacidad predictiva de los niveles de PCR de alta sensibilidad en nuestra población.

4. MÉTODOS

Pacientes

El protocolo fue aprobado por los comités éticos de los centros participantes. En este estudio se incluyeron 711 pacientes con enfermedad coronaria crónica procedentes del estudio BACS & BAMl (Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction) realizado en cuatro centros hospitalarios de Madrid: Fundación Jiménez Díaz, Hospital de Fuenlabrada, Hospital de Móstoles y Hospital de Alcorcón.

Todos los pacientes debían haber padecido previamente al menos un síndrome coronario agudo, con o sin elevación de ST. El SCASEST fue definido como dolor torácico de reposo de más de 20 minutos en las 24 horas anteriores, o aparición reciente de angina grado III-IV y descenso transitorio de ST o inversión de la onda T evaluado por el cardiólogo experimentado de dichos centros y/o elevación de troponina. El SCACEST fue definido como angina o síntomas agudos compatibles con el diagnóstico de más de 20 minutos de duración con presencia de elevación del segmento ST en dos derivaciones contiguas en el electrocardiograma y sin respuesta a la nitroglicerina y elevación de troponina.

Los criterios de exclusión fueron: Edad mayor de 85 años, la coexistencia de otras cardiopatías excepto la hipertrofia ventricular izquierda secundaria a HTA, coexistencia de alguna enfermedad o hábito tóxico que limitara la supervivencia, enfermedad coronaria no susceptible de revascularización y sujetos cuyo seguimiento no fuera posible. Con el objetivo de evitar la variabilidad en los resultados debido a una excesiva heterogeneidad en los intervalos entre el evento agudo y la extracción de sangre, se incluyó como criterio de exclusión que el paciente no estuviera estable al sexto día desde el evento principal, ya que la extracción se realizaba entre el 2º y 6º día.

Además de la primera extracción de sangre al alta, se extrajo una segunda muestra durante el seguimiento entre los meses 6-12 desde el evento que motivó la inclusión del paciente. Esta Tesis es un subestudio de los estudios BACS-BAMl que reporta datos de los pacientes que acudían a esta consulta ambulatoria con el diagnóstico de enfermedad coronaria estable, siguiendo su evolución a partir de este

momento.

Desde Julio de 2006 hasta Abril de 2010, se dieron de alta 1898 pacientes desde los 4 hospitales que participaron en el estudio con un diagnóstico de SCASEST ó SCACEST. De ellos, 838 pacientes fueron incluidos en el estudio. Los restantes no fueron reclutados en el estudio por alguno de los siguientes motivos: edad superior a 85 años (17,3%), presencia de hábitos tóxicos u otras enfermedades que limitaban la supervivencia del paciente (29%), imposibilidad de realizar una revascularización completa (14,5%), coexistencia de otra enfermedad cardíaca (6,8%), imposibilidad de realizar un seguimiento (12%), inestabilidad clínica más allá del sexto día de ingreso (9%), negativa a participar en el estudio por parte del paciente (2%) e imposibilidad de los investigadores para incluirlos (9%). De los 838 pacientes incluidos, siete murieron antes de la segunda visita y 711 tenían una muestra de sangre en ese momento. Esta segunda visita tuvo lugar de Enero de 2007 a Febrero de 2011. La última visita de seguimiento fue en Mayo de 2012.

Diseño del estudio

Tras firmar el consentimiento informado, se recogía una historia clínica completa que incluía numerosas variables clínicas entre las que destacaban la edad, el sexo, factores de riesgo coronario, la fracción de eyección y el tratamiento habitual. Se añadió también una historia cardiológica pormenorizada que comprendía el número de vasos enfermos, la gravedad de los mismos y la historia de revascularización, incluyendo el uso de stents en el evento isquémico previo a esa visita. Se recogían muestras de sangre venosa en recipientes con EDTA basalmente.

Definimos dos objetivos secundarios. El primero fue la recurrencia de eventos tromboticos agudos: presencia de SCASEST, SCACEST, infarto cerebral o accidente isquémico transitorio. El segundo objetivo fue la presencia de mortalidad de cualquier causa o ingreso por IC. El objetivo principal fue la combinación de los secundarios. El SCASEST y SCACEST fueron definidos como explicamos con anterioridad. La presencia de un nuevo SCACEST evolucionado o pasado fue definido como la aparición de nuevas ondas Q patológicas en el electrocardiograma junto con una nueva escara miocárdica concordante identificada por ecocardiograma o resonancia magnética cardíaca. El ictus isquémico fue definido como la rápida aparición de un déficit neurológico persistente atribuible a una lesión focal vascular de más de 24

horas de duración, o bien con resolución en menos de 24 horas pero acompañado de lesiones isquémicas en técnicas de imagen. El accidente isquémico transitorio fue definido como cuadro compatible con un ictus, como se explicó con anterioridad, cuyos síntomas se resolvían antes de 24 horas desde su comienzo sin evidencia de lesiones isquémicas nuevas en las técnicas de imagen. Los eventos fueron adjudicados por al menos dos investigadores del estudio, además de un especialista en Neurología para juzgar los eventos cerebrovasculares.

Estudios analíticos y biomarcadores empleados

Las muestras de sangre venosa fueron centrifugadas a 2500 g durante 10 minutos. El plasma fue almacenado a -80°C. Todas las determinaciones fueron realizadas en los laboratorios de Patología Vascular y Bioquímica de la Fundación Jiménez Díaz, Madrid. Los investigadores que realizaron los estudios en los laboratorios desconocían los datos clínicos de los participantes. Se midieron por duplicado los niveles plasmáticos de sTWEAK, NGAL, MCP-1, y Galectina-3 con kits de ELISA disponible comercialmente (BMS2006INST, Bender MedSystems; Kit 036, BioPorto; DCP00, R&D Systems; BMS279/2; Bender MedSystems, respectivamente) siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron 6,1% y 8,1% para sTWEAK, 4,6% y 5,9% para MCP-1, 5,3% y 7,9% para NGAL y 6,2 y 8,3% para Galectina-3. La PCR de alta sensibilidad fue determinada por un test de inmunoturbidimetría, el NT-pro-BNP por un test de inmunoensayo (VITROS, OrthoclinicalDiagnostics, EEUU).

Los análisis de lípidos, glucosa y creatinina fueron realizados por los métodos estándar (ADVIA 2400 ChemistrySystem, Siemens, Alemania).

Escala clínica de riesgo

Elegimos la escala de riesgo clínico derivada del estudio LIPID para pacientes con enfermedad coronaria estable, que incluye un completo número de variables. Se tiene en cuenta el valor del colesterol total, del HDL, la edad, el sexo, el hábito tabáquico, antecedentes de ictus, DM, HTA, IAM o haber sido revascularizado. Se asignaron los puntos según la Tabla 1.

Tabla 1. Escala de riesgo clínico en pacientes con enfermedad coronaria crónica derivada del estudio LIPID

Parámetro		Puntos asignados
Colesterol total ≥ 212.7 mg/dl		1
HDL ≤ 38.7		2
Edad	60-64	1
	65-69	2
	≥ 70	3
Sexo Varón		2
Fumador activo		3
Ictus previo		3
Diabetes		3
Hipertensión arterial		1
Infartos previos de miocardio aislados		1
Infarto previo de miocardio múltiples		6
Revascularización en el último síndrome coronario agudo		-4

El rango de la escala va de un mínimo de -4 a un máximo de +24 puntos.

HDL: High-density lipoprotein

Análisis estadístico

Los datos cuantitativos que siguieron una distribución normal se presentan como media \pm desviación estándar y se compararon mediante el test de la T de Student. Los que no siguieron una distribución normal se muestran como mediana (rango intercuartil) y se compararon con la prueba de Mann-Whitney. Las variables cualitativas se muestran como porcentajes y se compararon mediante χ^2 o el test exacto de Fisher, según correspondiera. Se utilizó el modelo de Cox para evaluar las variables asociadas tanto al objetivo primario y como los objetivos secundarios. Las variables con $p < 0,05$ se introdujeron en el modelo, y aquellas con $p > 0,10$ fueron retiradas. En el modelo 1, se estimó el riesgo incluyendo factores como la edad, el sexo, la DM, el tabaquismo, la HTA, índice de masa corporal y los niveles de lípidos . En el modelo 2, se añadieron las variables clínicas, analíticas y de tratamiento utilizados en la práctica clínica. Dentro de las variables clínicas estudiamos la historia previa de enfermedad periférica arterial, los accidentes cerebrovasculares, o la

fibrilación auricular. Como datos analíticos, la fracción de eyección < 40 %, la tasa de filtración glomerular evaluada mediante la fórmula CKD-EPI (método de colaboración Epidemiología Enfermedad Renal Crónica) y la PCR de alta sensibilidad. Como variables relacionadas con el tratamiento de los pacientes se analizó la presencia en el mismo de aspirina, clopidogrel, estatinas, acenocumarol, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, bloqueadores de los receptores de angiotensina, betabloqueantes, nitratos / nitroglicerina y diuréticos. También se analizó el tipo del último evento coronario agudo, el número de vasos enfermos y la existencia de una revascularización completa en ese evento. Por último, en el modelo 3, se incluyeron los biomarcadores estudiados. Se utilizaron las Curvas de Kaplan-Meier y la prueba de log-rank para comparar la influencia del tiempo con el resultado de acuerdo a una escala de multimarcadores. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa informático SPSS 19.0 (SPSS Inc., Nueva York).

5. RESULTADOS

La media de seguimiento fue de $2,2 \pm 0,99$ años. Se perdieron cinco pacientes durante el seguimiento, obteniéndose 706 casos para el análisis. El tiempo desde el último evento coronario agudo, hasta la extracción de plasma y el inicio de seguimiento fue de $7,5 \pm 3,0$ meses. Durante este evento, el 97,9 % de los pacientes fueron sometidos a angiografía coronaria.

Recurrencia de eventos trombóticos agudos

Cincuenta y tres pacientes desarrollaron este objetivo secundario. Hubo 4 IAMCEST, 22 casos de SCASEST, 17 casos de angina inestable, 8 accidentes cerebrovasculares y 10 ataques isquémicos transitorios. Cuatro pacientes sufrieron 2 eventos y 2 pacientes experimentaron 3 eventos.

Los pacientes que desarrollaron eventos trombóticos agudos mostraron aumento de los niveles plasmáticos de MCP- 1 [165,6 (124,1-194,9) vs 128,8 (103,1-163,8) pg/ml, $p<0,001$], galectina- 3 [8,89 (6,96-11,41) frente a 7,73 (5,94-9,70) ng/ml, $p=0,006$] y NT-pro-BNP [261,0 (138,5-674,5) frente a 163,0 (86,7-395,5) pg/ml, $p=0,005$] en comparación con aquellos que no lo hicieron. Además, la edad avanzada y el índice de masa corporal, la disminución del índice de filtración glomerular y una mayor prevalencia de HTA, sexo femenino, y terapia con nitratos estaban presentes en los pacientes que desarrollan este objetivo primario (Tabla 2). El resto de variables, incluyendo NGAL, TWEAK, y la PCR de alta sensibilidad, no mostraron diferencias significativas.

En el análisis multivariante, sólo los niveles plasmáticos de MCP-1 ($p=0,002$), se mantuvieron como predictor independiente de este objetivo final, junto con la edad y el índice de masa corporal (Tabla 3).

Tabla 2. Características de los pacientes con y sin eventos trombóticos agudos

	Pacientes sin eventos trombóticos agudos (N=653)	Pacientes con eventos trombóticos agudos (N=53)	Valor de P
Edad, años	60,0 (51,0-72,0)	69,0 (58,5-75,0)	<0,001
Varones (%)	76,1	64,2	0,042
Raza Caucásica (%)	97,1	96,2	0,478
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	28,4 (25,7-30,7)	30,0 (25,7-34,7)	0,029
Diabetes (%)	22,7	30,2	0,141
Fumador activo (%)	6,4	7,5	0,460
Hipertensión arterial (%)	63,6	84,9	0,001
Enfermedad vascular periférica (%)	3,7	5,7	0,330
Eventos cerebrovasculares (%)	3,4	3,8	0,551
Bypass aortocoronario previo (%)	8,0	13,2	0,143
ICP previo (%)	77,6	84,9	0,144
Fibrilación auricular (%)	4,9	7,5	0,281
Fracción de Eyección VI < 40% (%)	12,3	7,5	0,570
TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO			
Aspirina (%)	92,0	90,6	0,429
Clopidogrel (%)	67,8	66,0	0,447
Acenocumarol (%)	5,8	9,4	0,214
Estatinas (%)	88,1	81,1	0,109
IECAs (%)	55,9	47,2	0,139
ARA II (%)	15,8	24,5	0,076
Betabloqueantes (%)	76,3	77,4	0,505
Nitratos/Nitroglicerina (%)	16,1	28,3	0,023
Diuréticos (%)	19,1	24,5	0,217
DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO			
IAMCEST/SCASEST (%)	39,4/60,6	30,2/69,8	0,120
Número de vasos enfermos	1,36±0,80	1,58±0,80	0,058
Revascularización completa (%)	66,5	52,8	0,120
DATOS ANALÍTICOS			
LDL colesterol (mg/dl)	82,6±24,4	90,2±37,4	0,152
HDL colesterol (mg/dl)	43,7±10,8	45,3±11,3	0,304
Triglicéridos (mg/dl)	130,4±84,1	137,7±65,3	0,537
FGR (ml/min/1,73 m ²)	78,7 (63,6-90,2)	68,9 (61,2-86,8)	0,048
PCR alta sensibilidad (mg/L)	3,19±3,11	4,60±9,99	0,305
NGAL (ng/mL)	182,7±811,2	193,6±86,9	0,352
sTWEAK (pg/mL)	220,2±134,2	229,1±163,2	0,651

ARAI: Bloqueante de la angiotensina II; **FGR:** Filtrado glomerular renal (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration method); **HDL:** High density lipoprotein; **IAMCEST:** Infarto agudo con elevación de ST; **ICP:** Intervención coronaria percutánea; **IECA:** Inhibidor de la enzima convertasa de angiotensina; **LDL:** Low density lipoprotein; **NGAL:** Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin; **PCR** Proteína C-Reactiva; **SCASEST:** Síndrome coronario agudo sin elevación de ST; **sTWEAK:** soluble Tumor Necrosis Factor-like Weak Inducer of Apoptosis

Tabla 3. Modelo de riesgos proporcional de Cox para la incidencia de eventos trombóticos agudos

	Modelo 1					Modelo 2					Modelo 3				
	Hazard Ratio	95 % IC		p		Hazard Ratio	95 % IC		p		Hazard Ratio	95 % IC		p	
		Inferior	Superior				Inferior	Superior				Inferior	Superior		
Edad	1,047	1,021	1,073	<0,001		1,042	1,017	1,068	0,001		1,031	1,003	1,059	0,027	
IMC	1,101	1,041	1,164	0,001		1,105	1,045	1,169	<0,001		1,088	1,027	1,153	0,004	
Nitratos	---	---	---	---		1,885	1,006	3,530	0,048		---	---	---	---	
Hipertensión	---	---	---	---		---	---	---	---		2,148	0,983	4,693	0,055	
MCP-1	---	---	---	---		---	---	---	---		1,442*	1,144*	1,817*	0,002	

Modelo 1: Riesgo ajustado para edad, sexo, diabetes, hábito tabáquico, Índice masa corporal (IMC), y niveles de LDL, HDL y Triglicéridos.

Modelo 2: Riesgo ajustado para factores del modelo 1 e historia previa de enfermedad vascular periférica, eventos cerebrovasculares o fibrilación auricular; fracción de eyección <40%, tasa de filtrado glomerular [Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI)], proteína C reactiva de alta sensibilidad, terapia con estatinas, aspirina, clopidogrel, acenocumarol, inhibidores de la enzima convertasa de angiotensina, bloqueadora de los receptores de angiotensina, betabloqueantes, nitratos/nitroglicerina y diuréticos; tipo de último evento coronario anterior al comienzo del seguimiento, número de vasos enfermos y existencia de revascularización completa en dicho evento.

Modelo 3: Riesgo ajustado para los factores del modelo 2, y niveles de NT-pro-BNP, MCP-1, galectina-3, NGAL, y sTWEAK

*Incremento del riesgo cada 100 picogramos/ml.

IC: Intervalo de confianza. MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein-1

Predictores de insuficiencia cardiaca o muerte

Treinta y tres pacientes desarrollaron este objetivo. Hubo 16 episodios de IC y 23 muertes, con 6 pacientes que desarrollaron los 2 eventos. Nueve muertes fueron por causas cardiovasculares y cuatro se debieron a tumores malignos. Hubo además un episodio de muerte por sepsis, insuficiencia renal, isquemia intestinal, hemorragia gastrointestinal y pancreatitis. Hubo cinco muertes de etiología desconocida. Se diagnosticaron un total de veintiséis casos de cáncer durante el seguimiento.

Los pacientes que desarrollaron este objetivo presentaron niveles plasmáticos más altos de MCP-1 [175,4 (143,1-210,2) frente a 129,2 (103,6-165,1) pg/ml], galectina-3 [10,78 (7,87-14,47) frente a 7,73 (5,94 a 9,61) ng/ml], NT-proBNP [1.300,0 (477,0-3.370,0) frente a 163,5 (86,1-379,5) pg/ml], NGAL [262,8 (185,2-350,3) vs 165,4 (123,4-220,2) ng/ml] ($p<0,001$ para todos), y PCR de alta sensibilidad [3,87 (0,92-8,30) frente a 1,92 (0,83-3,90) mg/L, $p=0,020$]. Además, entre otras características, estos pacientes eran mayores, tenían una tasa de filtración glomerular menor, mostraron una mayor prevalencia de DM, HTA, enfermedad arterial periférica, accidentes cerebrovasculares y estaban siendo tratados más a menudo con acenocumarol y nitratos (Tabla 4).

En el análisis multivariado, el NT-proBNP ($p=0,004$) y la galectina-3 ($p=0,007$) fueron predictores independientes de desarrollo de este objetivo, junto con la HTA, el tratamiento con nitratos y acenocumarol, y una tasa de filtración glomerular baja (Tabla 5).

Tabla 4. Características de los pacientes con y sin muerte o insuficiencia cardiaca

	Pacientes sin eventos (N=673)	Pacientes con eventos (N=33)	Valor de P
Edad, años	60,0 (51,0-71,0)	76,0 (71,5-82,0)	<0,001
Varones (%)	76,1	57,6	0,017
Raza Caucásica (%)	96,9	100,0	0,360
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	28,7±4,4	28,8±6,3	0,923
Diabetes (%)	22,3	42,4	0,010
Fumador activo (%)	6,8	0,0	0,103
Hipertensión arterial (%)	63,6	97,0	<0,001
Enfermedad vascular periférica (%)	3,4	12,1	0,032
Eventos Cerebrovasculares (%)	2,8	15,2	0,004
<i>Bypass</i> aortocoronario previo (%)	7,7	21,2	0,015
ICP previa (%)	78,6	69,7	0,160
Fibrilación auricular (%)	3,9	30,3	<0,001
Fracción de Eyección < 40% (%)	11,1	27,3	<0,001
TRATAMIENTO FARMACOLOGIO			
Aspirina (%)	92,7	75,8	0,003
Clopidogrel (%)	68,2	57,6	0,140
Acenocumarol (%)	4,9	30,3	<0,001
Estatinas (%)	88,3	72,7	0,015
IECAs (%)	55,4	51,5	0,395
ARA II (%)	16,2	21,2	0,290
Betabloqueantes (%)	77,3	57,6	0,011
Nitratos/ Nitroglicerina (%)	15,3	51,5	<0,001
Diuréticos (%)	17,8	54,5	<0,001
DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO			
IAMCEST/SCASEST (%)	38,9/61,1	33,3/66,7	0,326
Número de vasos enfermos	1,36±0,80	1,66±0,83	0,040
Revascularización completo (%)	66,6	42,4	0,017
DATOS ANALÍTICOS			
LDL colesterol (mg/dl)	83,4±25,5	77,9± 27,3	0,222
HDL colesterol (mg/dl)	43,8±10,8	44,1±13,0	0,893
Triglicéridos (mg/dl)	130,3±83,2	142,7±74,3	0,403
FG (ml/min/1,73 m ²)	78,7 (64,5-90,6)	50,6 (38,8-72,1)	<0,001
sTWEAK (pg/mL)	220,9±133,1	221,4±194,7	0,984

Abreviaturas similares a la Tabla 2.

Tabla 5. Modelo de riesgos proporcional de Cox para la incidencia de insuficiencia cardiaca o muerte

Modelo 1					Modelo 2					Modelo 3				
Hazard Ratio	95 % IC		p	Hazard Ratio	95 % IC		p	Hazard Ratio	95 % IC		p			
	Inferior	Superior			Inferior	Superior			Inferior	Superior				
Edad	1,110	1,064	1,158	<0,001	---	---	---	---	---	---	---			
Diabetes	2,661	1,279	5,534	0,009	---	---	---	---	---	---	---			
Hipertensión	7,374	0,996	54,608	0,050	6,460	0,848	49,232	0,072	7,824	1,034	59,203	0,046		
Ictus	---	---	---	---	2,791	1,006	7,743	0,049	---	---	---	---		
Fib. auricular	---	---	---	---	3,715	1,619	8,526	0,002	---	---	---	---		
Nitratos	---	---	---	---	4,648	2,161	9,995	<0,001	4,102	1,901	8,851	<0,001		
FG	---	---	---	---	0,995	0,935	0,976	<0,001	0,965	0,942	0,988	0,003		
Acenocumarol	---	---	---	---	---	---	---	---	3,064	1,323	7,098	0,009		
NT-proBNP	---	---	---	---	---	---	---	---	1,025*	1,008*	1,042*	0,004		
Galectina-3	---	---	---	---	---	---	---	---	1,071	1,019	1,125	0,007		

Modelos 1, 2 y 3, como se describe en la tabla 3.

*Incremento del riesgo por incremento de 100 picogramos/ml

FGR: Filtrado glomerular renal; IC= Intervalo de confianza; NT-proBNP=Extremo NT del péptido natriurético tipo B

Desarrollo de eventos trombóticos, insuficiencia cardíaca aguda o muerte

Setenta y ocho pacientes presentaron este objetivo primario. Doce pacientes desarrollaron dos eventos y cinco pacientes sufrieron tres. Los pacientes que presentaron este objetivo mostraron aumento de niveles en plasma de MCP- 1 [166,8 (131,3-197,9) frente a 127,1 (102,2-160,3) pg/ml, $p<0,001$], galectina-3 [9,40 (7,01-12,03) frente a 7,70 (5,91-9,50) ng/ml, $p<0,001$], NT-proBNP [477 (167-1158) frente a 160 (85-359) pg/ml, $p<0,001$], y NGAL [210,4 (131,1-275,5) frente a 164,9 (124,0 – 219,1) ng/ml, $p=0,002$] en comparación con los que se mantuvieron estables. Además eran mayores, tenían una menor tasa de filtración glomerular y una mayor prevalencia de DM, HTA, antecedentes de cirugía de revascularización coronaria y fracción de eyección inferior al 40%. Estos pacientes estaban tratados más frecuentemente con acenocumarol, nitratos, diuréticos o menos tratamiento con estatinas o aspirina (Tabla 6). No hubo diferencias significativas entre ambos grupos en los niveles plasmáticos de sTWEAK y de PCR de alta sensibilidad.

En el análisis multivariado, el aumento de MCP-1 ($p=0,022$), galectina-3 ($p=0,025$), y de los niveles de NT-proBNP ($p=0,020$) fueron predictores independientes de la aparición de este objetivo final, junto con HTA, fibrilación auricular y tratamiento con nitratos (Tabla 7). Como era de esperar, los pacientes que estaban siendo tratados con nitratos mostraban un perfil clínico peor que los que no están con esta terapia (Tabla 8).

Tabla 6. Características de pacientes con y sin muerte, insuficiencia cardiaca o eventos tromboticos agudos

	Pacientes sin eventos (N=628)	Pacientes con eventos (N=78)	Valor P
Edad, años	59,0 (51,0-71,0)	72,0 (61,8-78,0)	<0,001
Varones (%)	76,8	62,8	0,007
Raza Caucásica (%)	97,0	97,4	0,584
Índice masa corporal (Kg/m ²)	28,4 (25,8-30,8)	29,0 (25,7-34,1)	0,012
Diabetes (%)	22,0	33,3	0,020
Fumador activo (%)	6,7	5,1	0,409
Hipertensión (%)	62,3	88,5	<0,001
Enfermedad vascular periférica (%)	3,3	7,7	0,066
Eventos cerebrovasculares (%)	3,0	6,4	0,114
Bypass aortocoronario previo (%)	7,3	16,7	0,008
ICP previa (%)	78,2	78,2	0,564
Fibrilación auricular (%)	3,3	16,7	<0,001
Fracción de eyección < 40% (%)	11,8	12,8	0,017
TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO			
Aspirina (%)	92,7	85,9	0,039
Clopidogrel (%)	68,5	61,5	0,135
Acenocumarol (%)	4,8	16,7	<0,001
Estatinas (%)	88,7	78,2	0,010
IECAs (%)	56,2	47,4	0,089
ARA II (%)	15,6	23,1	0,068
Betabloqueantes (%)	77,2	69,2	0,079
Nitratos/ Nitroglicerina (%)	14,5	37,2	<0,001
Diuréticos (%)	17,8	33,3	0,002
DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO			
IAMCEST/SCASEST (%)	39,6/60,4	30,8/69,2	0,080
Número de vasos enfermos	1,35±0,80	1,57±0,82	0,027
Revascularización completa (%)	67,4	50,0	0,010
DATOS ANALÍTICOS			
LDL colesterol (mg/dl)	82,7±24,2	86,9±35,0	0,307
HDL colesterol (mg/dl)	43,7±10,7	45,3±12,2	0,203
Triglicéridos (mg/dl)	130,3±84,6	135,9±66,7	0,573
FG (ml/min/1,73 m ²)	79,3 (64,6-90,6)	66,3 (47,1-83,0)	<0,001
PCR alta sensibilidad (mg/L)	4,41±9,73	5,20±9,05	0,495
sTWEAK (pg/mL)	221,9±135,4	213,2±144,9	0,595

Abreviaturas similares a la Tabla 2

Tabla 7. Modelo de riesgos proporcional de Cox para la incidencia de eventos agudos trombóticos, insuficiencia cardiaca o muerte

		Modelo 1				Modelo 2				Modelo 3			
	Hazard Ratio	95 % IC		P	Hazard Ratio	95 % IC		P	Hazard Ratio	95 % IC		P	
		Inferior	Superior			Inferior	Superior			Inferior	Superior		
Edad	1,061	1,037	1,084	<0,001	1,030	1,003	1,059	0,033	---	---	---	---	
Hipertensión	2,594	1,278	5,265	0,008	2,321	1,126	4,786	0,023	2,973	1,461	6,049	0,003	
IMC	1,085	1,034	1,140	0,001	1,071	1,017	1,127	0,009	---	---	---	---	
Fib. auricular	---	---	---	---	2,045	1,084	3,859	0,027	2,494	1,312	4,741	0,005	
Nitratos	---	---	---	---	2,367	1,435	3,903	0,001	2,471	1,498	4,076	<0,001	
FGR	---	---	---	---	0,983	0,968	0,999	0,032	---	---	---	---	
MCP-1	---	---	---	---	---	---	---	---	1,498*	1,236*	1,815*	<0,001	
NT-proBNP	---	---	---	---	---	---	---	---	1,020*	1,006*	1,034*	0,005	
Galectina-3	---	---	---	---	---	---	---	---	1,045	1,007	1,084	0,019	

Modelos 1, 2, y 3 como se describen en la tabla 3

*Incremento en el riesgo por cada aumento de 100 picogramos/ml

IC: Intervalo de confianza. Resto de abreviaturas como Tabla 2; IMC: Índice de masa-corporal; FGR: Filtrado glomerular renal; MCP1: Monocyte Chemoattractant Protein-1;

NT-proBNP=Extremo NT del péptido natriurético tipo B

Tabla 8. Características basales de los pacientes que tomaban nitratos/nitroglicerina

	Pacientes que reciben nitratos/nitroglicerina (N=120)	Pacientes que no reciben nitratos/nitroglicerina (N=586)	Valor P
Edad, años	67,5 (56,3-75,0)	60,0 (51,0-71,0)	<0,001
Sexo masculino (%)	73,3	75,6	0,338
Raza Caucásica (%)	99,2	96,6	0,102
IMC (Kg/m ²)	28,6±5,0	28,7±4,4	0,859
Diabetes (%)	34,2	21,0	0,002
Fumador activo (%)	3,3	7,2	0,082
Hipertensión arterial (%)	68,3	64,5	0,244
Enfermedad vascular periférica (%)	6,7	3,2	0,071
Eventos cerebrovasculares (%)	2,5	3,6	0,395
Bypass aortocoronario previo (%)	15,0	7,0	0,005
ICP previa (%)	65,8	80,7	<0,001
Fibrilación auricular (%)	10,0	4,1	0,011
Fracción de Eyección < 40% (%)	13,3	11,6	0,074
TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO			
Aspirina (%)	85,8	93,2	0,009
Clopidogrel (%)	60,0	69,3	0,032
Acenocumarol (%)	13,3	4,6	0,001
Estatinas (%)	81,7	88,7	0,027
IECAS (%)	45,8	57,2	0,015
ARA II (%)	17,5	16,2	0,409
Betabloqueantes (%)	70,0	77,6	0,049
Diuréticos (%)	23,3	18,8	0,153
DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO			
IAMCEST/SCASEST	15,8/84,2	43,3/56,7	<0,001
Número de vasos enfermos	1,52±0,86	1,34±0,79	0,044
Revascularización completa (%)	40,8	70,5	<0,001
DATOS ANALÍTICOS			
LDL (mg/dl)	83,5±27,8	83,1±25,2	0,868
HDL (mg/dl)	44,1±10,7	43,8±10,9	0,740
Triglicéridos (mg/dl)	139,6±84,6	129,1±82,4	0,209
FGR (ml/min/1.73 m ²)	69,2 (54,3-86,8)	79,5 (64,9-90,7)	<0,001
PCR alta sensibilidad (mg/L)	3,58±5,73	4,68±10,27	0,104
NT-Pro-BNP (pg/mL)	759,2±1742,5	432,9±974,3	0,049
MCP-1 (pg/mL)	149,7±75,4	141,4±62,4	0,201
Galectina-3 (ng/mL)	8,8 (6,3-10,7)	7,7 (5,9-9,5)	0,003
NGAL (ng/mL)	195,2±89,6	181,1±79,8	0,113
TWEAK (pg/mL)	213,4±91,7	222,5±143,9	0,506

NT-proBNP=Extremo NT del péptido natriurético tipo B; MCP1: Monocyte Chemoattractant Protein-1; Resto de abreviaturas similares a la Tabla 2.

“Score” de biomarcadores

Se desarrolló un “Score” de acuerdo con el número de biomarcadores (MCP - 1, galectina-3, y NT-proBNP) cuyos valores estaban por encima de la mediana, dando un punto por cada marcador que estuviera elevado. De esta manera, un paciente podría tener una puntuación de 0-3. Cuando esta puntuación se incluyó en el modelo de riesgos proporcionales de Cox, cada punto otorgado aumentaba el riesgo de desarrollar el objetivo primario [1,832 (1,356-2,474)], con una fuerte significación estadística ($p < 0,001$) (tabla 9).

Las curvas de Kaplan-Meier mostraron que el tiempo hasta la aparición del primer objetivo primario disminuye a medida que aumenta el valor del score multimarcador ($p < 0,001$, test de log-rank) (Figura 13).

Tabla 9. Modelo de riesgo proporcionado de Cox para la incidencia del objetivo primario.

	Hazard Ratio	Modelo 3		
		95% IC		P
		Inferior	Superior	
Enfermedad arterial periférica	2,860	1,107	7,385	0,030
Score Multimarcador	1,832	1,356	2,474	<0,001
Nitratos	2,609	1,595	4,268	<0,001
Hipertensión	2,140	1,034	4,427	0,040
IMC	1,068	1,016	1,122	0,01
Filtrado glomerular	0,983	0,970	0,996	0,011
Estatinas	0,461	0,260	0,815	0,008

Rango del Score multimarcador que va de 0 a 3 y se refiere al número de biomarcadores que presentan un valor por encima de la mediana (MCP-1, galectina-3 y NT-proBNP). Modelo 3, como se describe en la tabla 3. IC: Intervalo de Confianza; IMC: Índice de masa corporal

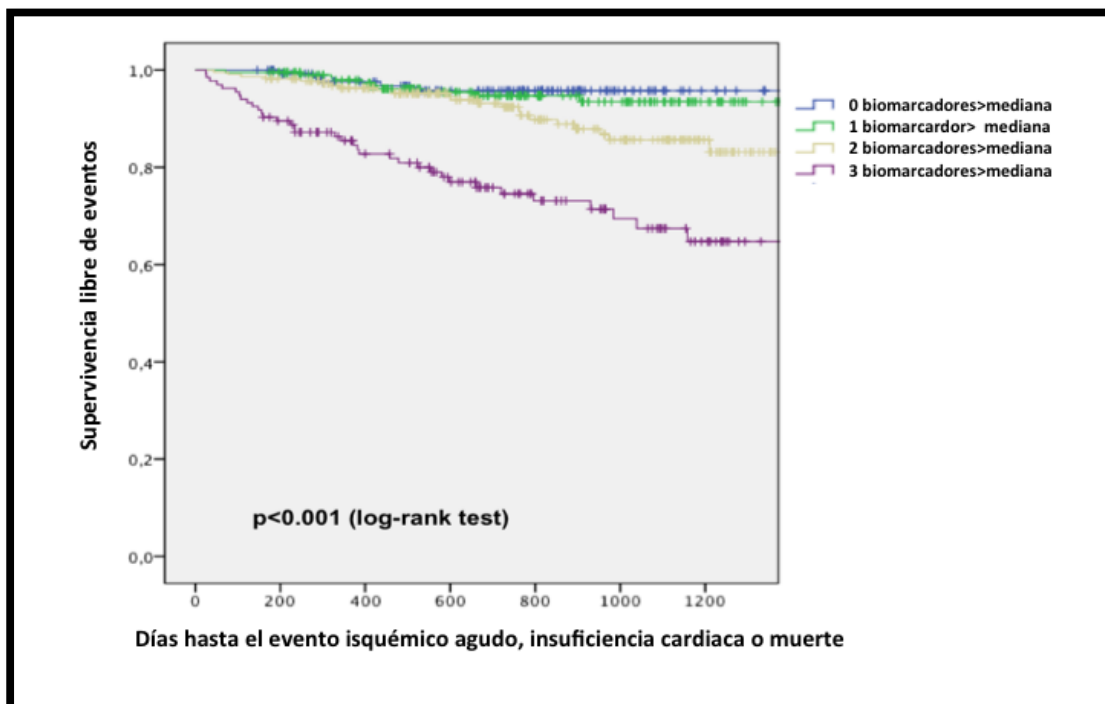


Figura 13. Curvas de Kaplan-Meier que muestran la relación con el tiempo hasta la aparición del primer objetivo primario, según el valor de “score” multimarcador

Efecto de MCP-1, proBNP y Galectina-3 en el valor predictivo de la escala de riesgo clínica

La escala clínica de riesgo del estudio LIPID obtuvo un valor predictivo significativo en las curvas ROC [área bajo la curva 0,642 (0,579 – 0,705); $p < 0,001$] (figura 14, izquierda). Transformamos los niveles de MCP-1, Galectina-3 y NT-pro-BNP en un valor del 1 al 10 según el decil de su concentración. Así obtuvimos una escala combinada añadiendo los deciles de los tres marcadores a la puntuación de la escala clínica. Usando esta escala, el área bajo la curva aumentó a 0,744 (0,684 – 0,805; $p < 0,001$). Una puntuación de esta escala combinada menor de 21.5 se correspondía con una sensibilidad del 74% y una especificidad del 61%. La curva de Kaplan-Meier mostró una mejoría en el pronóstico en los pacientes con un resultado menor de 21.5 ($p < 0,001$; test de log-rank) (Figura 14, derecha). La comparación de las curvas ROC de la escala del estudio LIPID frente a la escala combinada clínica de LIPID más los biomarcadores era significativa ($p = 0,022$).

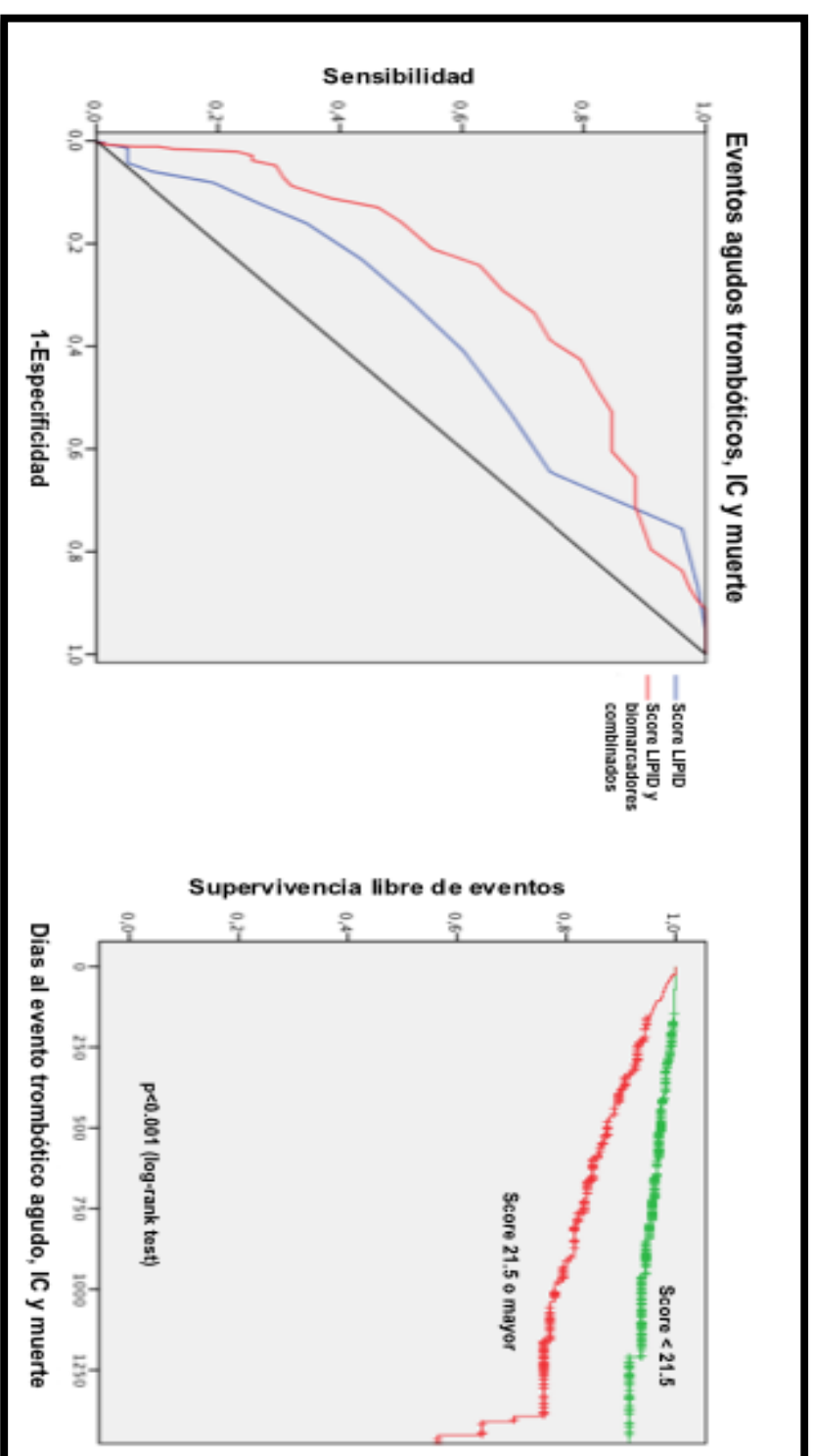


Figura 14. Panel izquierdo. Curva ROC comparando la precisión diagnóstica de la escala clínica sólo con la escala clínica más biomarcadores. Panel derecho: Curva de Kaplan-Meier mostrando de nuestro Score para predecir la aparición de eventos trombóticos agudos, IC (insuficiencia cardíaca) y muerte

Biomarcadores, función renal y cáncer

Hubo una relación significativa entre el filtrado glomerular renal estimado y NGAL ($r=-0,379$, $p<0,001$), NT-proBNP ($r=-0,374$; $p<0,001$), Galectina-3 ($r=-0,282$, $p<0,001$), MCP-1 ($-0,261$; $p<0,001$) y la PCR ($r=-0,124$; $p<0,001$).

A 26 pacientes se les diagnosticó un nuevo cáncer. Los niveles de NT-proBNP se encontraron elevados de manera estadísticamente significativa en pacientes en los que se diagnosticó un nuevo cáncer durante el seguimiento [302 (140-897) frente a 166 (87-409) pg/mL; $p=0,016$. Los otros biomarcadores no mostraron diferencias significativas. No hubo asociación significativa entre el desarrollo de cáncer y el de IC ($p=1,000$).

6. DISCUSIÓN

Como hemos abordado en la introducción, los pacientes que sufren un evento isquémico agudo pueden morir antes de recibir atención médica. Por lo tanto, identificar a aquellas personas con riesgo de presentar eventos cardiovasculares en el futuro es muy importante para intensificar las medidas preventivas.

Hasta la fecha se ha examinado el papel pronóstico de múltiples biomarcadores plasmáticos. Junto a los niveles lipídicos, que pueden ser considerados biomarcadores, la CPK-MB y, más tarde, las troponinas han mostrado ser efectivos como predictores pronósticos en el SCA, además de ser útiles en el diagnóstico. Los péptidos natriuréticos (BNP o el NT-proBNP) se usan en el diagnóstico de la IC, e incluso han evidenciado valor pronóstico en esta patología. Hay datos que incluso muestran que tienen capacidad pronóstica en enfermedad coronaria, si bien aún no se usan en la práctica clínica con este fin. Más allá de estas moléculas, no hay ninguna que se utilice de forma habitual en la clínica.

En las últimas décadas, ha habido un gran interés en la búsqueda de nuevos biomarcadores. De ellos, la más conocida es la proteína C reactiva.^{189,253} Sin embargo, ha habido resultados contradictorios que han evitado su uso generalizado en la práctica clínica.^{258,259} También se han examinado otros biomarcadores por su implicación en el proceso aterosclerótico. Entre ellos destacan la fosfolipasa A₂, que hidroliza los fosfolípidos en productos proaterogénicos y que ha mostrado su poder pronóstico fundamentalmente en pacientes hipercolesterolémicos de alto riesgo.²⁸⁸ Otra molécula esperanzadora fue el CD40L que ha mostrado su valor pronóstico en el paciente agudo, aunque no tanto en enfermedad coronaria estable.^{199,264,265} Las moléculas de adhesión tipo ICAM-1 y VCAM-1, también se ensayaron para analizar su utilidad en este campo, por su relevancia en el proceso aterosclerótico. Sin embargo sus resultados no han sido consistentes.^{266,267} De modo similar, unos niveles séricos altos de mieloperoxidasa se asocian con la presencia de enfermedad coronaria.²⁷⁰ Además de estos hay un largo etcétera de biomarcadores ensayados, pero ninguno es usado en la práctica clínica debido a la falta de consistencia de los resultados de los diferentes estudios. Por tanto, a pesar de los avances de la Medicina Cardiovascular, nuestra capacidad de predecir la evolución de los pacientes coronarios es muy limitada. Esta carencia es aún más evidente en el paciente coronario crónico donde, a diferencia de lo que ocurre en el SCA, no hay escalas clínicas de riesgo aceptadas para su uso en la práctica clínica.

Cuando buscamos el valor pronóstico de los biomarcadores plasmáticos en la enfermedad coronaria, tenemos que ser conscientes de que esta población no está sólo expuesta a desarrollar eventos cardiovasculares, sino también a otras comorbilidades como enfermedades malignas o enfermedad renal. Por otra parte, dentro de los eventos cardiovasculares tenemos los derivados de nuevas complicaciones vasculares y otros que dependen del daño miocárdico que puede deberse a episodios isquémicos previos o al efecto de los factores de riesgo cardiovascular como la HTA e incluso la DM. Por ello, en esta Tesis, hemos elegido un panel de biomarcadores que cubren estas patologías.

Predictores de eventos trombóticos agudos

Para este objetivo, el nivel plasmático de MCP-1 fue el único biomarcador con un poder predictivo significativo, junto con factores clínicos tales como la edad avanzada, la HTA y el índice de masa corporal. Esto no sorprende, puesto que esta citoquina juega un papel clave en el reclutamiento de los monocitos en la pared vascular, que a su vez promueven la inestabilidad de la placa de ateroma.^{317,318} Nuestro grupo ha demostrado que las estatinas y los moduladores del sistema renina-angiotensina disminuyen su expresión en modelos animales de aterosclerosis,^{118,129} probablemente a través de una reducción de la activación del factor de transcripción nuclear NF- κ B, cuya función es activar la expresión de diferentes citoquinas proinflamatorias. Además, MCP-1 puede tener propiedades procoagulantes completando un perfil que claramente favorece la aparición de SCAs.³¹⁹ Por otra parte, la PCR de alta sensibilidad no mostró capacidad predictiva alguna en nuestra población, confirmando así las dudas existentes en cuanto a su posible incorporación a la práctica clínica habitual.

Existen datos previos que sugieren que el MCP-1 puede ser un buen indicador pronóstico. Cuando se determinaron los niveles plasmáticos de MCP-1 en 279 voluntarios sanos y en 2270 pacientes con SCA enrolados en el estudio OPUS-TIMI 16, se observó que estos últimos tenían niveles mayores que los individuos sanos (157 vs 178 pg/ml, $p < 0,001$). Además, en el seguimiento a 10 meses, los pacientes con niveles plasmáticos de MCP-1 superiores al percentil 75 tuvieron más incidencia de muerte o IAM de miocardio.¹⁹² Sin embargo, estos pacientes recibían un inhibidor de la proteína IIa/IIIb (orbofiban), pues se trataba de un ensayo clínico cuyo objetivo principal era testar el efecto de este inhibidor de los receptores IIb-IIIa en pacientes con SCA. Esta es una limitación del estudio porque el orbofiban no está

siendo usado en la práctica clínica, ya que no consiguió disminuir la incidencia de eventos cardiovasculares.³²⁰ Esta Tesis es un trabajo observacional, diseñado primariamente para estudiar el poder predictivo de un panel de biomarcadores. No testamos pues ningún fármaco y los pacientes eran tratados según las guías clínicas de cardiopatía isquémica vigentes cuando se inició.³²¹

En el ensayo clínico A to Z (Agrastat to Zocor) se estudiaba en la fase A el efecto de enoxaparina frente a heparina no fraccionada en pacientes que recibían tirofiban, cuyo nombre comercial es Agrastat. En la fase Z, se comparaba el efecto de simvastatina (Zocor®) intensiva (40 mg/d un mes, seguidos de 80 mg/d) frente a una estrategia moderada (4 meses sin estatinas y después 20 mg/d). Los niveles de MCP-1 obtenidos durante el evento agudo eran predictores independientes de muerte, IAM y de la combinación de ambos aislada o junto a IC. Cuatro meses después del evento agudo, se determinaban nuevamente los niveles de MCP-1. La asociación entre estos niveles y la incidencia de IAM desaparecía, pero permanecía la asociación con la aparición de muerte y con el combinado de IAM e IC.

Sin embargo, los datos sobre la fracción de eyección, el número de vasos enfermos, el tipo de revascularización y el porcentaje de casos con revascularización completa no se incluyeron en el análisis. Tampoco se daba información sobre el tratamiento (excepto aspirina e inhibidores del sistema de angiotensina). Además, dado el diseño del estudio, tanto en el momento de la extracción inicial como de la realizada a los cuatro meses, la mitad de los pacientes usaba un régimen intensivo de simvastatina y la otra mitad no usaba estatinas. Finalmente, los pacientes con niveles de creatinina mayores de 2 mg/dl fueron excluidos, puesto que se conoce que el efecto de las estatinas en esta situación no está claramente probado.³²² Como ya hemos comentado, en la presente Tesis nuestros pacientes fueron tratados de manera homogénea y además recogimos una historia completa de su enfermedad cardíaca, incluyendo el número de vasos afectados en el último episodio coronario agudo, la fracción de eyección y el tratamiento usado. Como se ha visto, estos datos y otros potencialmente importantes en el pronóstico, como los FRC, historia cardiovascular previa, función renal y una completa relación de los fármacos con efectos a nivel cardiovascular se incluyeron en el análisis multivariado.

Predictores de insuficiencia cardiaca y muerte

Los niveles aumentados de NT-proBNP y la galectina-3 fueron predictores independientes de desarrollo de este objetivo, junto con la HTA, el tratamiento con nitratos y acenocumarol, y una tasa de filtración glomerular baja.

El BNP es un conocido marcador y predictor de IC. Su utilidad en el diagnóstico fue demostrada por primera vez por Maisel en 2002.³⁰³ En este estudio se midió el nivel de BNP en los pacientes que acudían por disnea a la Urgencia. En él se comparó la precisión diagnóstica de este péptido contra un “patrón oro” establecido por dos cardiólogos expertos. Se demostró que los pacientes con IC y disfunción ventricular tenían mayor nivel de BNP que los que tenían disfunción ventricular sin IC y éstos, a su vez, mayor que aquellos que no tenían ninguno de los dos. Además se comprobó que la simple medición de los niveles plasmáticos de este péptido tenía mayor precisión diagnóstica que la opinión de los médicos de Urgencias.³²³ Incluso se mostró que su empleo mejoraba la eficiencia y disminuía el tiempo hasta el inicio del tratamiento.³²⁴ El NT-proBNP también ha mostrado su valor en el diagnóstico de la IC, y su valor pronóstico en diferentes escenarios.³²⁵ Se ha estudiado su valor pronóstico en pacientes sin cardiopatía conocida y asintomáticos. Wang et al estudiaron 3.346 ptes de la población Framingham con una edad media de 58 años, 53% mujeres, 41% hipertensos y 10 % diabéticos.²⁵² Durante los 5 años de seguimiento se observó que los niveles de BNP elevados se asociaron a un mayor riesgo de muerte, eventos cardiovasculares mayores, IC, fibrilación auricular, ictus y eventos cerebrales transitorios.

El NT-ProBNP también mostró un poder pronóstico similar en pacientes sin cardiopatía ni nefropatía conocida en un estudio de más de 500 ptes.³⁰⁴ En este estudio además superó a la PCR en dicho cometido. La relación de riesgo para mortalidad para los percentiles superior a 80 fue de 1.96 para el NT-proBNP y de 1.46 para la PCR. Además, los niveles séricos de NT-proBNP se asociaron al desarrollo del primer evento cardiológico con una relación de riesgo de 3.24, mientras que la PCR tenía una de 2.32.

También se ha descrito el posible valor pronóstico de los péptidos natriuréticos en el paciente coronario agudo. De Lemos et al estudiaron 1676 pacientes con SCASEST.³⁰⁵ Aquellos con BNP >80 pg/ml tenían mayor riesgo de

muerte a los 7 días (2,5 vs 0,7, $p=0,006$) y a los 6 meses (8,4% frente a 1,8%, $p<0,0001$). Esta asociación fue independiente de los niveles de troponina I. Resultados similares se han obtenido con el NT-proBNP.³⁰⁶ En un trabajo realizado con pacientes con SCA del estudio GUSTO-IV, el NT-proBNP fue el mejor marcador de mortalidad, por encima incluso de troponina T, la PCR, la frecuencia cardíaca y el aclaramiento de creatinina.

Por último, también hay datos que sugieren que los péptidos natriuréticos han demostrado su valor pronóstico en la enfermedad coronaria estable. En un estudio de 1085 pacientes con enfermedad coronaria crónica, sin IC y sin enfermedad inflamatoria crónica severa y con 2,5 años de seguimiento, se comprobó que los pacientes con niveles basales de BNP en el cuartil superior ($>100,3$ pg/mL) tenían un riesgo 6 veces superior de IAM no fatal o muerte cardiovascular que los pacientes con niveles de BNP en el cuartil inferior ($<11,8$ pg/mL) tras los correspondientes ajustes para los distintos FRC y posibles factores de confusión como la fracción de eyección. Cuando se escogía un punto de corte de BNP de 100 pg/mL los pacientes con niveles superiores presentaban un riesgo 4,4 veces mayor que el resto de tener un evento cardiovascular.³⁰⁷

A diferencia de lo que sucede con los péptidos natriuréticos existe menos información disponible sobre la Galectina-3. Se trata de una lectina soluble, que está envuelta en diferentes procesos, como reacciones inmunes, transformación neoplásica y metástasis.³⁰⁸ También juega un papel importante en la fibrosis cardíaca y en el remodelado.³⁰⁹ Además, predice la mortalidad y la severidad de la IC y de la enfermedad renal en los pacientes con IC.^{310,311} Sus niveles plasmáticos se asocian con el riesgo de muerte en pacientes con enfermedad arterial periférica (Martín Ventura et al, pendiente de publicación).

Los niveles plasmáticos de Galectina-3 fueron usados en la población el estudio PROVE IT-TIMI 22.³¹² El objetivo primario de este estudio fue comparar el efecto de un régimen intensivo de estatinas con otro moderado en pacientes con un SCA reciente. Se identificaron cien casos con hospitalización por un episodio de IC, fuera primer episodio o recurrencia, y fueron comparados con 100 controles pareados por edad, sexo, tipo de SCA y tratamiento recibido. Los pacientes que desarrollaron IC tenían mayor nivel de Galectina-3. Esta asociación siguió siendo significativa tras ajustar para otros factores como HTA, DM, IAM previo e IC previos. Por otra parte, en el estudio CORONA también se investigó el valor pronóstico de los

niveles de este biomarcador. Se trataba de un ensayo clínico en el que la rosuvastatina no mostró efecto sobre la incidencia de eventos cardiovasculares comparada con placebo en una población de pacientes con enfermedad coronaria y disfunción sistólica de VI.³²⁶ Los valores plasmáticos de galectina-3 no predijeron la incidencia de muerte cardiovascular, IAM no fatal o ictus tras ajustar para los valores de NT-proBNP.³²⁷ Sin embargo, cuando se reanalizó el efecto de rosuvastatina en relación con los niveles de biomarcadores, se comprobó que este tratamiento sí reducía la incidencia de este objetivo en pacientes con valores de galectina-3 menores de la mediana (19 ng/ml).³²⁸ La combinación de estos valores de galectina-3 baja con un NT-proBNP menor de 102,7 pmol/L identificaba a pacientes que obtenían un claro beneficio con esta estatina. Los resultados de estos estudios sugieren que los efectos beneficiosos de las estatinas a nivel vascular pueden no ser evidentes en presencia de disfunción sistólica severa de VI, ya que ésta puede empeorar el pronóstico por mecanismos que no son inhibidos por las estatinas. Los bajos niveles de galectina-3 y NT-proBNP identificarían pues, subgrupos de pacientes con disfunción ventricular que tienen un riesgo aún bajo de IC y mortalidad, y en los que el efecto de las estatinas podría ser todavía significativo.

Esta Tesis confirma el valor pronóstico de los niveles plasmáticos de galectina-3 en una población de pacientes con enfermedad coronaria crónica no limitada a sujetos con disfunción ventricular, y que tienen un tratamiento homogéneo, al no tratarse de un ensayo clínico. Además, muestra que esta capacidad predictiva se mantiene tras corregir para múltiples variables clínicas y ajustar para los niveles de NT-proBNP. Por último, este trabajo muestra que el valor pronóstico de este biomarcador y del NT-proBNP es específico para IC y muerte, pero no para eventos isquémicos agudos, en los que el MCP-1 sí era efectivo. Por tanto, una idea interesante que se deriva de nuestros resultados es que cada biomarcador puede estar dirigido a eventos específicos, y que la combinación de varios tipos de biomarcadores diferentes puede ser útil para cubrir un amplio rango de eventos adversos.

Predictores del objetivo final de eventos trombóticos agudos, muerte e insuficiencia cardiaca

Los niveles aumentados de galectina-3 y NT-pro-BNP se unieron a los de MCP-1 como predictores de la aparición de este objetivo final combinado, junto con parámetros clínicos tales como HTA, existencia de fibrilación auricular y tratamiento con nitratos.

En nuestro trabajo, los niveles plasmáticos de NT-proBNP no eran predictores independientes de la recurrencia de eventos trombóticos agudos. Sin embargo, para este objetivo combinado, sí se mantuvo como factor independiente, sin duda por la inclusión de la IC en el mismo. Algo similar ocurría con la galectina-3, que también ha sido vinculada al desarrollo de IC y al remodelado ventricular.³⁰⁹⁻³¹¹

Un aspecto a menudo olvidado en los estudios, es que el paciente coronario puede fallecer por causas no cardíacas, entre las que se encuentra el cáncer. Hasta la fecha sabíamos que algunos fármacos antitumorales son cardiotóxicos y pueden producir disfunción ventricular e IC. Además, Hasin y colaboradores han descrito recientemente una asociación entre IC y cáncer.³⁰² Estos autores compararon un grupo de pacientes con IC con un grupo control sin esta patología emparejados según edad y sexo. La prevalencia de cáncer previo era similar tanto en los pacientes con IC de nuevo diagnóstico como en los controles. Sin embargo, al evaluar la cohorte sin ningún antecedente de cáncer, se encontró que los pacientes con IC tenían un 68% mayor de riesgo de ser diagnosticados de un tumor maligno en comparación con los controles, tras ajustar por el índice de masa corporal, tabaquismo y otras comorbilidades. Además, estos pacientes con IC y diagnóstico de cáncer tenían un 56% mayor de riesgo de muerte en comparación de aquellos que no lo tenían. Este estudio abre una nueva visión del problema de la IC. Hay comorbilidades no cardíacas en los pacientes con IC que tienen un impacto sobre la mortalidad y las hospitalizaciones en pacientes diagnosticados de IC, tanto con disfunción ventricular izquierda como sin ella. Todavía está en discusión si la IC por sí misma puede producir neoplasias, si en ambas enfermedades convergen los mismos factores de riesgo (tabaquismo, enolismo) o incluso si la radiación usada en las pruebas diagnósticas o los tratamientos empleados en la IC (IECA, ARA II, antagonistas del calcio) pueden jugar algún papel en el desarrollo de tumores. Hay autores que sugieren que los pacientes que están en tratamiento para la IC están

estrechamente vigilados y esto podría dar lugar a un aumento de diagnósticos de cáncer. Sea como fuere, el caso es que el cáncer se asocia frecuentemente a este diagnóstico. De ahí que en nuestro panel hayamos incluido galectina-3, que se asocia con desarrollo del mismo. También el BNP y el NT-ProBNP han sido relacionados con esta patología y ya hay artículos que sugieren que se trata de un marcador independiente de desarrollo de cáncer y no sólo de las complicaciones cardíacas desarrollados por quimioterápicos cardiotóxicos.³²⁹ En nuestro estudio, el número de fallecimientos por cáncer no era suficiente para sacar conclusiones, pero sí analizamos el nivel de biomarcadores en pacientes que eran diagnosticados de cáncer durante el seguimiento. Aunque los niveles de galectina-3 basales no mostraban diferencias entre estos pacientes y los que no desarrollaban neoplasias, los niveles de NT-proBNP sí eran mayores en aquellos que fueron diagnosticados de un tumor maligno. No evidenciamos sin embargo asociaciones entre nuevos diagnósticos de cáncer e IC, aunque esto podía deberse al limitado número de pacientes que desarrollaron estos eventos.

A la vista de estos datos, entendemos que es muy importante seleccionar biomarcadores que puedan detectar el riesgo de desarrollar no solo eventos cardiovasculares, sino también de otro tipo, buscando así un “Pronóstico Integral” para nuestros pacientes. La razón es que el deseo lógico del ser humano es vivir mucho y en las mejores condiciones posibles, pero le resulta menos relevante cual sea la patología que deteriore su estado o ponga fin a su vida.

Galectina-3, MCP-1 y NT-proBNP mejoran la clasificación de riesgo clínico

Aunque se han diseñado diversas escalas de riesgo clínico para la prevención primaria y el SCA, no hay ninguna aceptada en la práctica clínica para la enfermedad coronaria crónica.^{221,259,330} Esto es una limitación adicional en el manejo del paciente coronario crónico, y es muy relevante para nuestra práctica clínica. Diariamente atendemos más pacientes con enfermedad coronaria crónica que pacientes con patología coronaria aguda, y estos pacientes son susceptibles de desarrollar un evento agudo en el futuro. Por tanto, debemos dirigir una parte importante de nuestros esfuerzos a tratar de identificar aquellos casos de potencial alto riesgo.

En la literatura hemos identificado varias escalas que estratifican el riesgo en base a datos clínicos. Entre ellas están la escala VILCAD, obtenida del estudio

LURIC,²⁴⁴ la escala de D'Agostino, basada en la población de Framingham²⁴³ y la escala de Marschner, derivada del estudio LIPID.²⁴⁵ Para la realización de este estudio elegimos esta última por considerarla la más completa, ya que tiene en cuenta varios factores clínicos y analíticos como ya explicamos en la introducción. En nuestro trabajo, esta escala predijo significativamente la evolución de los pacientes aunque la sensibilidad y la especificidad fueron modestas. Añadiendo los valores de nuestros biomarcadores mejoraba considerablemente la capacidad de esta escala para predecir eventos adversos. Por tanto, el panel de biomarcadores descrito en esta Tesis muestra su utilidad para mejorar la capacidad pronóstica de la escala de riesgo clínico más completa estudiada en esta población hasta la fecha. Así, si bien es necesario desarrollar en el futuro mejores escalas clínicas de riesgo para los pacientes coronarios estables, parece evidente que en la situación actual el papel de un panel de biomarcadores con resultados contrastados como el que presentamos puede ser claramente beneficioso.

Limitaciones

Nuestro estudio tiene limitaciones que conviene comentar. 1) La albúmina urinaria no se midió en nuestra población, por lo que podríamos haber infraestimado la enfermedad renal, por no haber detectado los estadios más incipientes. 2) Nosotros excluimos del estudio los pacientes que no estaban estables al sexto día del evento principal, lo cual puede introducir un cierto sesgo, pues estos pacientes probablemente tienen peor pronóstico. Sin embargo por este motivo solo se excluyó al 9% de la población, por lo que el posible impacto de este factor sobre el estudio es limitado.

7. CONCLUSIONES

En los pacientes con enfermedad coronaria crónica:

1. Los niveles plasmáticos elevados de MCP-1 son indicadores independientes de una alta probabilidad de desarrollar un evento trombótico agudo, tanto a nivel coronario como cerebral.
2. Los niveles elevados de NT-proBNP y de galectina-3 en plasma, pero no los de MCP-1, predicen de modo independiente el desarrollo de IC o muerte.
3. Los tres biomarcadores descritos tienen valor predictor independiente de la aparición de eventos trombóticos agudos, IC o muerte.
4. La escala de riesgo clínica derivada del estudio LIPID tenía una moderada, aunque significativa, capacidad predictiva de la aparición de eventos trombóticos agudos, IC o muerte.
5. La combinación de los valores de los citados biomarcadores con la escala clínica de riesgo incrementa la capacidad de ésta de predecir el desarrollo de eventos adversos en el futuro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rosamond W, Flegal K, Furie K, et al. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2008;117:e25-e146.
2. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2010;121:948-954.
3. Dégano IR, Elosua R, Marrugat J. Epidemiología de la enfermedad cardiovascular en España en los últimos 20 años. Epidemiología del síndrome coronario agudo en España: estimación del número de casos y la tendencia de 2005 a 2049. *Rev Esp Cardiol* 2013;66:472-481.
4. Cabades A. El registro REGICOR y la epidemiología del infarto de miocardio en España: se hace camino al andar. *Rev Esp Cardiol* 2007;60:342-345.
5. Heidenreich PA, McClellan M. Trends in treatment and outcomes for acute myocardial infarction: 1975-1995. *Am J Med* 110;2001:165-174.
6. Puymirat E, Simon T, Steg PG, et al. Association of changes in clinical characteristics and management with improvement in survival among patients with ST-elevation myocardial infarction. *JAMA* 2012;308:998-1006.
7. The GUSTO investigators. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993;329: 673-682.
8. Van De Werf F, Adgey J, et al. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet* 1999;354:716-722.
9. Cannon CP, Gibson CM, Lambrew CT, et al. Relationship of symptom-onset-to-balloon time and door-to-balloon time with mortality in patients undergoing angioplasty for acute myocardial infarction. *JAMA* 2000;283:2941-2947.

10. Stone GW, Grines CL, Cox DA, et al. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002;346:957-966.
11. Steg PG, Goldberg RJ, Gore JM, et al. Baseline characteristics, management practices, and in-hospital outcomes of patients hospitalized with acute coronary syndromes in the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Am J Cardiol* 2002;90: 358-363.
12. Hasdai D, Behar S, Wallentin L, et al. A prospective survey of the characteristics, treatments and outcomes of patients with acute coronary syndromes in Europe and the Mediterranean basin; the Euro Heart Survey of Acute Coronary Syndromes (Euro Heart Survey ACS). *Eur Heart J* 2002;23: 1190-1201.
13. Gil M, Martí H, Elosua R, et al. Análisis de la tendencia en la letalidad, incidencia y mortalidad por infarto de miocardio en Girona entre 1990 y 1999. *Rev Esp Cardiol* 2007;60: 349-356.
14. Cabadés A, Echanove I, Cebrián J et al, en representación de los investigadores del PRIMVAC. Características, manejo y pronóstico del paciente con infarto de miocardio en la Comunidad Valenciana en 1995: resultados del registro PRIMVAC (Proyecto de Registro de Infarto Agudo de Miocardio de Valencia Alicante y Castellón) . *Rev Esp Cardiol* 1999;52:123-133.
15. Heras M, Marrugat J, Aros F, et al. Reducción de la mortalidad por infarto agudo de miocardio en un periodo de 5 años. *Rev Esp Cardiol* 2006;59: 200-208.
16. FRISC II investigators. Invasive compared with non-invasive treatment in unstable coronary-artery disease: FRISC II prospective randomised multicentre study. FRagmin and Fast Revascularisation during InStability in Coronary artery disease Investigators. *Lancet* 1999;354:708-715.
17. Cannon CP, Weintraub WS, Demopoulos LA, et al. Comparison of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndromes treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *N Engl J Med* 2001;344: 1879-1887.

18. Law MR, Watt HC, Wald NJ. The underlying risk of death after myocardial infarction in the absence of treatment. *Arch Intern Med* 2002;162:2405-2410.
19. Armstrong PW, Fu Y, Chang WC, et al. Acute coronary syndromes in the GUSTO-IIb trial: prognostic insights and impact of recurrent ischemia. The GUSTO-IIb Investigators. *Circulation* 1998;98: 1860-1868.
20. Furman MI, Dauerman HL, Goldberg RJ, et al. Twenty-two year (1975 to 1997) trends in the incidence, in-hospital and long-term case fatality rates from initial Q-wave and non-Q-wave myocardial infarction: a multi-hospital, community-wide perspective. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1571-1580.
21. Marrugat J, Elosua R, Martí H. Epidemiology of ischaemic heart disease in Spain: estimation of the number of cases and trends from 1997 to 2005. *Rev Esp Cardiol*, 2002;55:337-346.
22. Dawber TR, Moore Fe, Mann GV. Coronary heart disease in the Framingham study. *Am J Public Health* 1957;47:4-24.
23. Dawber TR, Kannel WB, Revotskie N, et al. Some factors associated with the development of coronary heart disease: six years' follow-up experience in the Framingham study. *Am J Public Health* 1959;49:1349-1356.
24. The pooling project research group. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: final report of the pooling project. *J Chronic Dis* 1978;31:201-306.
25. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III).» *JAMA* 2001;285: 2486-2497.
26. Canto JG, Kiefe CI, Rogers WJ, et al. Number of coronary heart disease risk factors and mortality in patients with first myocardial infarction. *JAMA* 2011;306:2120-2127.

27. Greenland P, Knoll MD, Stamler J, et al. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *JAMA* 2003;290:891-897.
28. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-952.
29. Eckel RH, York DA, Rössner S, et al. Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: executive summary. *Circulation* 2004;110:2968-2975.
30. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, et al. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 1999;341:1097-1105.
31. Dong JY, Zhang YH, Wang P, et al. Meta-analysis of dietary glycemic load and glycemic index in relation to risk of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 2012;109:1608-1613.
32. Bernstein AM, Sun Q, Hu FB, et al. Major dietary protein sources and risk of coronary heart disease in women. *Circulation* 2010;122:876-883.
33. Rimm EB, Ascherio A, Giovannucci E, et al. Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *JAMA* 1996;275:447-451.
34. Wolk A, Manson JE, Stampfer MJ, et al. Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women. *JAMA* 1999;281:1998-2004.
35. Held C, Iqbal R, Lear SA, et al. Physical activity levels, ownership of goods promoting sedentary behaviour and risk of myocardial infarction: results of the INTERHEART study. *Eur Heart J* 2012;33:452-466.
36. Liem A, Reynierse-Buitenwerf GH, Zwinderman AH, et al. Secondary prevention with folic acid: effects on clinical outcomes. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:2105-2113.
37. The BIP Study Group. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease: the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study. *Circulation* 2000;102:21-27.

38. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective study of lipoprotein(a) and the risk of myocardial infarction. *JAMA* 1993;270:2195-2199.
39. Wilson PW. Established risk factors and coronary artery disease: the Framingham Study. *Am J Hypertens* 1994;7:7S-12s.
40. Al Suwaidi J, Reddan DN, Williams K, et al GUSTO-III, PURSUIT. Prognostic implications of abnormalities in renal function in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2002;106:974-980.
41. Kirtane AJ, Leder DM, Waikar SS, et al. Serum blood urea nitrogen as an independent marker of subsequent mortality among patients with acute coronary syndromes and normal to mildly reduced glomerular filtration rates. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1781-1786.
42. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39:51-266.
43. Wilt T, Davis B, Meyers, et al. Prevalence and correlates of symptomatic peripheral atherosclerosis in individuals with coronary heart disease and cholesterol levels less than 240 mg/dl: baseline results from the cholesterol and recurrent events/CARE/study. *Angiology* 1996;47:533-541.
44. Gad C, Cannon Ch, McCabe C, et al. Prior peripheral arterial disease and cerebrovascular disease are independent predictors of adverse outcome in patients with Unstable Coronary Syndromes-Thrombolysis in Myocardial Infarction. *Am Heart J* 2003;145: 622-627.
45. Guíjarro C. «Enfermedad arterial oclusiva en los estudios REACH, FRENA y AIRVAG. *MedClin* 2006;127:605-611.
46. Charchar FJ, Bloomer LD, Barnes TA, et al. Inheritance of coronary artery disease in men: an analysis of the role of the Y chromosome. *Lancet* 2012;379:915-922.
47. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1997;145:408-415.

48. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003;107:1303-1307.
49. Ohlsson C, Barrett-Connor E, Bhasin S, et al. High serum testosterone is associated with reduced risk of cardiovascular events in elderly men. The MrOS (Osteoporotic Fractures in Men) study in Sweden. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1674-1681.
50. Gurfinkel E, Bozovich G, Daroca A, et al. Randomised trial of roxithromycin in non-Q-wave coronary syndromes: ROXIS pilot study. ROXIS study group. *Lancet* 1997;350: 404-407.
51. Gupta S, Leatham EW, Carrington D, et al. Elevated Chlamydia pneumoniae antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation* 1997;96:404-407
52. Anderson JL, Muhlestein JB, Carlquist J, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for Chlamydia Pneumoniae infection. *Circulation* 1999;99:1540-1547.
53. Muhlestein JB, Anderson JL, Carlquist JF, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease. Primary clinical results of the ACADEMIC study. *Circulation* 2000;102:1755-1760.
54. O'connor CM, Dunne MW, Pfeffer M, et al. Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the wizard study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;290:1459-1466.
55. Zahn R, Schneider S, Frilling B, et al. Antibiotic therapy after acute myocardial infarction: a prospective randomized study. *Circulation* 2003;107:1253-1259.
56. Madjid M, Miller CC, Zarubaev VV, et al. «Influenza epidemics and acute respiratory disease activity are associated with a surge in autopsy-confirmed coronary heart disease death: results from 8 years of autopsies in 34,892 subjects.» *Eur Heart J* 2007;28:1205-1210.
57. Wiedermann CJ, Kiechl S, Dunzendorfer S, et al. «Association of endotoxemia with carotid atherosclerosis and cardiovascular disease:

- prospective results from the Bruneck Study.» J Am Coll Cardiol 1999;34:1975-1981.
58. Monahan K, Storfer-Isser A, Mehra R, et al. Triggering of nocturnal arrhythmias by sleep-disordered breathing events. J Am Coll Cardiol 2009;54:1797-1804.
 59. Simantirakis EN, Schiza SI, Marketou ME, et al. Severe bradyarrhythmias in patients with sleep apnoea: the effect of continuous positive airway pressure treatment: a long-term evaluation using an insertable loop recorder. Eur Heart J 2004;25:1070-1076.
 60. Peppard PE, Young T, Palta M, et al. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. N Engl J Med 2000;342:1378-1384.
 61. Arias MA, García-Río F, Alonso-Fernández A, et al. Pulmonary hypertension in obstructive sleep apnoea: effects of continuous positive airway pressure: a randomized, controlled cross-over study. Eur Heart J 2006;27:1106-1113.
 62. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, et al. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. Lancet 2005;365:1046-1053.
 63. Yumino D, Tsurumi Y, Takagi A, et al. Impact of obstructive sleep apnea on clinical and angiographic outcomes following percutaneous coronary intervention in patients with acute coronary syndrome. Am J Cardiol 2007;99:26-30.
 64. Steiner S, Schueller PO, Schulze V, et al. Occurrence of coronary collateral vessels in patients with sleep apnea and total coronary occlusion. Chest 2010;137:516-520.
 65. Kristal-Boneh E, Silber H, Harari G, et al. The association of resting heart rate with cardiovascular, cancer and all-cause mortality. Eight year follow-up of 3527 male Israeli employees (the CORDIS Study). Eur Heart J 2000;21:116-124.

66. Nauman J, Aspenes ST, Nilsen L, et al. A Prospective Population Study of Resting Heart Rate and Peak Oxygen Uptake (the HUNT Study, Norway). *JAMA*. 2011;306:2579-2587
67. Fox K, Ford I, Steg PG, et al, and BEAUTIFUL Investigators. Ivabradine for patients with stable coronary artery disease and left-ventricular systolic dysfunction (BEAUTIFUL): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008;372:807-816.
68. Swedberg K, Komajda M, Böhm M, et al and SHIFT Investigators. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): a randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2010;376:875-885.
69. Renkin EM. Multiple pathways of capillary permeability. *Circ Res* 1977;41:735-743.
70. Stein Y, Stein O. Interaction between serum lipoproteins and cellular components of the arterial wall. *Biochem* 1977;7:313-344.
71. Vanhoutte PM. The endothelium: modulator of vascular smooth-muscle tone. *N Engl J Med* 1988;319:512-513.
72. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;93:109-142.
73. Scott-Burden T, Vanhoutte PM. « The endothelium as a regulator of vascular smooth muscle proliferation. » *Circulation* 1993;87:V51-V55.
74. Draijer R, Atsma DE, van der Laarse A, et al. CGMP and nitric oxide modulate thrombin-induced endothelial permeability: regulation via different pathways in human aortic and umbilical vein endothelial cells. *Circ Res* 1995;76:199-208.
75. Cardona-Sanclemente LE, Born GV. Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on the uptake of LDL and fibrinogen by arterial walls organs of the rat. *Br J Pharmacol* 114 (1995): 1490-1494.
76. Skilton MR, Sullivan TR, Ayer JG, et al. Carotid extra-medial thickness in childhood: early life effects on the arterial adventitia. *Atherosclerosis* 2012;222:478-482.
77. Campbell KA, Lipinski MJ, Doran AC, et al. Lymphocytes and the adventitial immune response in atherosclerosis. *Circ Res*, 2012;110:889-900.

78. Henry PD, Chen CH. Inflammatory mechanisms of atheroma formation. Influence of fluid mechanics and lipid-derived inflammatory mediators. *Am J Hypertens* 1993;6:328S-334S.
79. Nollert MU, Diamond SL, McIntire LV. Hydrodynamic shear stress and mass transport modulation of endothelial cell metabolism. *Biotechnol Bioengineer* 1991;38: 588-602.
80. Carosi JA, Eskin SG, McIntire LV. Cyclical strain effects on production of vasoactive materials in cultured endothelial cells. *J Cell Physiol* 1992;151:29-36.
81. Lin SJ, Jan KM, Weinbaum S, et al. Transendothelial transport of low-density lipoprotein in association with cell mitosis in rat aorta. *Arteriosclerosis* 1989;9:230-236.
82. Nielsen LB, Nordestgaard BG, Stender S, et al. Aortic permeability to LDL as a predictor of aortic cholesterol accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb* 1991;12:1402-1409.
83. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.
84. Flavahan NA, Vanhoutte PM. G-protein and endothelial responses. *Blood vessels* 1990;27:218-229.
85. Flavahan NA, Vanhoutte PM. Endothelial cell signaling and Endothelial Dysfunction. *Am J Hypertens* 1995;8:28S-41S.
86. Harrison DG. Alteration of vasomotor regulation in atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995;9:55-63.
87. Cox DA, Cohen ML. Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 1996;48:3-19.
88. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, et al. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998;97:1129-1135.
89. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, et al. Novel mechanism for endothelial dysfunction. Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999;99: 3092-3095.
90. Bode-Boger SM, Boger RH, Kienke S, et al. Elevated L-arginine/dimethylarginine ration contributes to enhanced systemic NO

- production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;219:598-603.
91. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad and the ugly. *Am J Physiol* 1996;271: C1424-1437.
 92. Dzau DJ. Mechanism of protective effects of ACE inhibition on coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19(Suppl J): J2-J6.
 93. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, et al. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* 1996;94:19-25.
 94. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* 1993;91: 2546-2551.
 95. Liu S, Beckman JS, Ku DD. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:1114-1121.
 96. Moro MA, Darley-Usmar VM, Goodwin DA, et al. Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:6702-6706.
 97. Lefer DJ, Scalia F, Campbell B, et al. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest* 1997;99: 684-691.
 98. Moro MA, Darley-Usmar VM, Lizasoain I, et al. The formation of nitric oxide donors from peroxynitrite. *Br J Pharmacol* 1995;116: 1999-2004.
 99. Ischiropoulos H, Al-Mehdi AB. Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Lett* 1995;364:279-282.
 100. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, et al. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1620-1624.
 101. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide and superoxide. *Am J Physiol* 1995;268:L699-L722.
 102. BATTERY LD, Springall DR, Chester AH, et al. Inducible nitric oxide synthase is present within human atherosclerotic lesions and promotes the formation and activity of peroxynitrite. *Lab Invest* 1996;75:77-85.

103. Rajagopalan S, Harrison DG. Reversing endothelial dysfunction with ACE inhibitors. A new trend? . *Circulation* 1996;94:240-243.
104. Griendling KH, Mineri CA, Ollerenshaw JD, et al. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cell. *Circ Res* 1994;74:1141-1148.
105. Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations to vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996;97:1916-1923.
106. Mancini GBJ, Henry GC, Macaya C, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND study. *Circulation* 1996;94:258-265.
107. Dietz F, Dzau VJ, Pratt RE. Increased accumulation of tissue ACE in human atherosclerotic coronary artery disease. *Circulation* 1996;94:2766-2767.
108. Tuñón J, Martín-Ventura JL, Gómez-Hernández A et al. Etiopatogenia y correlaciones clínicas de la aterotrombosis. En: Ejido J, Tuñón J, López Bescós (editores). *Aterotrombosis: De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica*. Editorial Línea de Comunicación, Madrid, 2004:19-37
109. Goldschmid MG, Barrett-Connor E, Edelstein SL, et al. Dyslipidemia and ischemic heart disease mortality among men and women with diabetes. *Circulation* 1994;89:991-997.
110. Aronson D, Rayfield EJ. Diabetes and obesity. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996:327-359.
111. Sigurdsson G Jr, Gudnason V, Sigurdsson G, et al. Interaction between a polymorphism of the apo A-I promoter region and smoking determines plasma levels of HDL and apo A-I. *Arterioscler Thromb* 1992;12:1017-1022.
112. McCall MR, van den Berg JJ, Kuypers FA, et al. Modification of LCAT activity and HDL structure: New links between cigarette smoke and coronary heart disease risk. *Arterioscler Thromb* 1994;14:248-253.

113. Bucala R, Makita Z, Vega G, et al. Modification of low-density lipoprotein by advanced glycation end products contributes to the dyslipidemia of diabetes and renal insufficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:9441-9445
114. Steinbrecher UP, Witztum JL. Glycosylation of low density lipoproteins to an extent comparable to that seen in diabetics slows their catabolism. *Diabetes* 1984;33:130-134.
115. Fuster V. Coronary artery disease: a clinical-pathological correlation. New York: Fuster V (ed.): Futura Publishing, 1996.
116. Camejo G, Hurt-Camejo E, Wiklund O, et al. Association of apo B lipoproteins with arterial proteoglycans: pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis* 1998;139:205-222.
117. Shyy YJ, Hsieh HJ, Usami S, et al. Fluid shear stress induces a biphasic response of human monocyte chemotactic protein 1 gene expression in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:4678-4682.
118. Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, et al. HMG-CoA reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:2057-2064.
119. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-B. A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Eng J Med* 1997;336:1066-1071.
120. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, et al. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophage. *Circulation* 1999;99:993-998.
121. Robbesyn F, Garcia V, Auge N, et al. HDL counterbalance the proinflammatory effect of oxidized LDL by inhibiting intracellular reactive oxygen species rise, proteasome activation, and subsequent NF-kappaB activation in smooth muscle cells. *FASEB J* 2003;17:743-745.
122. Tsao PS, Wang B, Buitrago R, et al. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation* 1997;96:934-940.
123. Collins T. Endothelial nuclear factor-B and the initiation of the atherosclerotic lesion. *Lab Invest* 1993;68:499-508.
124. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr, et al. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte

- adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993;13:197-204.
125. Poston RN, Haskard DO, Coucher JR, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1992; 140:665-673.
 126. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993;171:223-229.
 127. Inoue S, Egashira K, Ni W, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* 2002;106:2700-2706.
 128. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest* 1991;88: 1121-1127.
 129. Hernández-Presa M, Bustos C, Ortego M, et al. Angiotensin Converting enzyme inhibition prevents arterial NF- κ B activation, MCP-1 expression and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation* 1997;95:1532-1541.
 130. Mach F, Sauty A, Iarossi AS, et al. Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest* 1999;104:1041-1050
 131. Burleigh ME, Babaev VR, Oates JA, et al. Cyclooxygenase-2 promotes early atherosclerotic lesion formation in LDL receptor-deficient mice. *Circulation* 2002;105:1816-1823.
 132. De Caterina R, Zampolli A. From asthma to atherosclerosis. 5-lipoxygenase, leukotrienes, and inflammation. *N Engl J Med* 2004;350:4-7.
 133. Cyrus T, Witztum JL, Rader DJ, et al. Disruption of the 12/15-lipoxygenase gene diminishes atherosclerosis in apo E-deficient mice. *J Clin Invest* 1999;103:1597-1604.
 134. Keidar S, Kaplan M, Shapira C, et al. Low-density lipoprotein isolated from patients with essential hypertension exhibits increased

- propensity for oxidation and enhanced uptake by macrophages: a possible role for angiotensin II. *Atherosclerosis* 1994;107:71-84.
135. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T, et al. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:6434-6438.
 136. Schwartz CJ, Chandler AB. Coronary atherosclerotic disease: pathological background. In Fuster V (ed.): *Syndromes of Atherosclerosis*, New York, 1996:17-32.
 137. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998;98:1164-1171.
 138. Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ER. The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res* 1995;77:445-465.
 139. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;92:1355-1374.
 140. Jawien A, Bowen-Pope DF, Lindner V, et al. Platelet-derived growth factor promotes smooth-muscle migration and intimal thickening in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest* 1992;89:507-511.
 141. Hu Y, Zhang Z, Torsney E, et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest* 2004;113:1258-1265.
 142. Shibutani T, Kanda A, Ishigai Y, et al. Inhibitory effect of perindopril, a novel angiotensin-converting enzyme inhibitor, on neointima formation after balloon injury in rats and cholesterol-fed rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24:509-516.
 143. Rakugi H, Wang DS, Dzau VJ, et al. Potential importance of tissue angiotensin-converting enzyme inhibition in preventing neointima formation. *Circulation* 1994;90:449-455.

144. Powell JS, Clozel JP, Müller RKM, et al. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science* 1989;245:186-188.
145. Naftilan AJ, Pratt RE, Dzau VJ. Induction of platelet-derived growth factor A-chain and myc gene expressions by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989;83:1419-1424.
146. Aikawa M, Kim HS, Kuro-o M, et al. Phenotypic modulation of smooth muscle cells during progression of human atherosclerosis as determined by altered expression of myosin heavy chain isoforms. *Ann N Y Acad Sci* 1995;748:578-585.
147. Amento EP, Ehsani N, Palmer H, et al. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1223-1230.
148. Oemar BS, Werner A, Garnier JM, et al. Human connective tissue growth factor is expressed in advanced atherosclerotic lesions. *Circulation* 1997;18: 831–839.
149. Tuñón J, Ruiz-Ortega M, Egido J. Regulation of matrix proteins and impact on vascular structure. *Current Hypertension Reports* 2000;2:106-113 .
150. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995;77:863-868.
151. Bendeck MP, Irvin C, Reidy MA. Inhibition of matrix metalloproteinase activity inhibits smooth muscle cell migration but not neointimal thickening after arterial injury. *Circ Res* 1996;78:38-43.
152. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987;316:1371-1375.
153. O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, et al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1994;145:883-894.
154. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med* 2003;349:2316-2325.

155. Raitakari OT, Juonala M, Kahonen M, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *JAMA* 2003;290:2277-2283.
156. Jang IK, Lassila R, Fuster V. Atherogenesis and inflammation. *Eur Heart J* 1993;14:2-6.
157. McNamara CA, Sarembock IJ, Gimple LW, et al. Thrombin stimulates proliferation of cultured rat aortic smooth muscle cells by a proteolytically activated receptor. *J Clin Invest* 1993;91:94-98.
158. Webber BJ, Seguin PG, Burnett DG, et al. Prevalence of and risk factors for autopsy-determined atherosclerosis among US service members, 2001-2011. *JAMA* 2012;308:2577-2583.
159. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease?. *Circulation* 1988; 78:1157-1166.
160. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, et al. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1988;12:56-62.
161. Mann JM, Davies MJ. Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation* 1996; 94:928-931.
162. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, et al. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes : an intravascular ultrasound study. *Circulation* 2000;101:598-603.
163. Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1996;94:2013-2020.
164. Falk E, Shah PK, Fuster V. Pathogenesis of plaque disruption. Atherosclerosis and coronary artery disease. IN Fuster V. Ross R and Topol EJ editors. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996:491-507.
165. Reikhter MD, Zhang K, Narayanan AS, et al. Type I collagen gene expression in human atherosclerosis. Localization to specific plaque regions. *Am J Pathol* 1993;143:1634-1648.

166. Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG, et al. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res* 1992;71:850-858.
167. Burleigh MC, Briggs AD, Lendon CL, et al. Collagen types I and III, collagen content, GAGs and mechanical strength of human atherosclerotic plaque caps: Span-wise variations. *Atherosclerosis* 1992;96:71-81.
168. Stein PD, Hamid MS, Shivkumar K, et al. Effects of cyclic flexion of coronary arteries on progression of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1994;73:431-437.
169. Cheng GC, Loree HM, Kamm RD, et al. Distribution of circumferential stress in ruptured and stable atherosclerotic lesions. A structural analysis with histopathological correlation. *Circulation* 1993;87:1179-1187.
170. Van der Wal AC, Becker AE, Van der Loos CM, et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994;89:36-44.
171. Moreno PR, Falk E, Palacios IF, et al. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes: implication for plaque rupture. *Circulation* 1994;90:775-778.
172. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, al. Increased local temperature in human coronary atherosclerotic plaques: an independent predictor of clinical outcome in patients undergoing a percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1277-1283.
173. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-671.
174. Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinase. *BioEssays* 1992;14:455-463.
175. Weitkamp B, Cullen P, Plenz G, et al. Human macrophages synthesize type VIII collagen in vitro and in the atherosclerotic plaque. *FASEB J* 1999;13:1445-1457.
176. Fitzsimmons C, Proudfoot D, Bowyer DE. Monocyte prostaglandins inhibit procollagen secretion by human vascular smooth

- muscle cells: implications for plaque stability. *Atherosclerosis* 1999;142:287-293.
177. Leskinen MJ, Kovanen PT, Lindstedt KA. Regulation of smooth muscle cell growth, function and death in vitro by activated mast cells. A potential mechanism for the weakening and rupture of atherosclerotic plaques. *Biochem Pharmacol* 2003;66:1493-1498.
178. Ihara M, Urata H, Kinoshita A, et al. Increased chymase-dependent angiotensin ii formation in human atherosclerotic aorta. *Hypertension* 1999;33:1399-1405.
179. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, et al. Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:606-612.
180. Laine P, Kaartinen M, Penttilä A, et al. Association between myocardial infarction and the mast cells in the adventitia of the infarct-related coronary artery. *Circulation* 1999;99:361-369.
181. Casale PN, Jones JL, Wolf FE, et al. Patients treated by cardiologists have a lower in-hospital mortality for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:885-889.
182. Martin-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Muñoz-García B, et al. NF-kappaB activation and Fas ligand overexpression in blood and plaques of patients with carotid atherosclerosis: potential implication in plaque instability. *Stroke* 2004;35:458-463.
183. Wilson SH, Best PJ, Edwards WD, et al. Nuclear factor-kappa immunoreactivity is present in human coronary plaque and enhanced in patients with unstable angina pectoris. *Atherosclerosis* 2002;160:147-153.
184. Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res* 2001;89:1092-1103.
185. Bavendiek U, Libby P, Kilbride M, et al. Induction of tissue factor expression in human endothelial cells by CD40 ligand is mediated via activator protein 1, nuclear factor kappa B, and Egr-1. *J Biol Chem* 2002;277:25032-25039.

186. Lutgens E, Cleutjens KB, Heeneman S, et al. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:7464-7469.
187. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, et al. Periheral blood levels of matrix metalloproteases -2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:368-372.
188. Ritchie ME. Nuclear factor-B is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation* 1998;98:1707-1713.
189. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Eng J Med* 1997;326:973-979.
190. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol. *Circulation* 1998;98:839-844.
191. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, et al. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351:88-92.
192. de Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, et al. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107: 690-695.
193. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003;348:1104-1111.
194. Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Muñoz-García B, et al. NF- κ B activation and fas-ligand overexpression in blood and plaques of patients with carotid atherosclerosis: potential implication in plaque instability. *Stroke* 2004;35:458-463.
195. Hernández-Presa MA, Bustos C, Ortego M, et al. The ACE inhibitor quinapril reduces the arterial expression of NF- κ B dependent proinflammatory factors but not of collagen in a rabbit model of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1998;153:1825-1837.

196. Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Gómez-Hernández, et al. Intensive treatment with atorvastatin reduces inflammation in mononuclear cells and human atherosclerotic lesions in one month. *Stroke* 2005;36:1796-1800.
197. Ortego M, Bustos C, Hernández-Presa MA, et al. Atorvastatin reduces NF- κ B activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis* 1999;147:253-261.
198. Blanco-Colio L, Valderrama M, Álvarez-Sala LA, et al. Red wine intake prevents nuclear factor κ -B activation in peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers during postprandial lipemia. *Circulation* 2000;102:1020-126.
199. Andre P, Prasad KS, Denis CV, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. *Nat Med* 2002;8:247-252.
200. Isner JM, Kearney M, Bortman S, et al. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation* 1995;91:2703-2711.
201. Hetts SW. To die or not to die. An overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA* 1998;279:300-307.
202. Mallat Z, Bénédict H, Ohan J, et al. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques. A role for apoptosis in plaque thrombogenicity. *Circulation* 1999;99:348-353.
203. Hutter R, Valdiviezo C, Sauter BV, et al. Caspase-3 and tissue factor expression in lipid-rich plaque macrophages: evidence for apoptosis as link between inflammation and atherothrombosis. *Circulation* 2004;109:2001-2008.
204. Bauriedel G, Hutter R, Welsch U, et al. Role of smooth muscle cell death in advanced coronary primary lesions: implications for plaque instability. *Cardiovasc Res* 1999;41:480-488.
205. Hishikawa K, Oemar BS, Tanner FC, et al. Overexpression of connective tissue growth factor gene induces apoptosis in human aortic smooth muscle cells. *Circulation* 1999;100:2108-2121.

206. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis. An assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997;96:4095-4103.
207. Dechend R, Maas M, Gieffers J, et al. Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF- κ B and induces tissue factor and PAI-1 expression. *Circulation* 1999;100:1369-1373.
208. Bachmaier K, Neu N, LM de la Maza, et al. Chlamydia infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science* 1999;283:1335-1339.
209. Weis M, Kledal TN, Lin KY. Cytomegalovirus Infection Impairs the Nitric Oxide Synthase Pathway: Role of Asymmetric Dimethylarginine in Transplant Arteriosclerosis. *Circulation* 2004;109:500-505.
210. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, et al. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation* 1998;98:2796-2799.
211. Ridker PM, Kundsin RB, Stampfer MJ, et al. Prospective study of Chlamydia Pneumoniae IgG seropositivity and risks of future myocardial infarction. *Circulation* 1999;99:1161-1164.
212. Davies MJ, Woolf N, Rowles PM, et al. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart J* 1998;60:459-464.
213. Farb A, Burke AP, Tang AL, et al. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core: a frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation* 1996;93:1354-1363.
214. Berenson GS, Radhakrishnamurty B, Srinivasan SR, et al. Arterial wall injury and proteoglycan changes in atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:1002-1010.
215. Rauch U, Bonderman D, Bohrmann B, et al. Transfer of tissue factor from leukocytes to platelets is mediated by CD15 and tissue factor. *Blood* 2000;96:170-175.
216. Laszik ZG, Zhou XJ, Ferrell GL, et al. Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and

- thrombomodulin in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol* 2001;159:797-802.
217. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, et al. ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology Task Force Members. *Eur Heart j*, 2013;34:2949-3003.
218. Antman EM, Cohen M, Bernink PJ, et al. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA* 2000;284:835-842.
219. Boersma E, Pieper KS, Steyerberg EW, et al. Predicts of outcome in patients with acute coronary syndromes without persistent ST-segment elevation. Results from an international trial of 9461 patients. *Circulation* 2000;101:2557-2567.
220. Granger CB, Goldberg RJ, Dabbous OH et al. for the Global Registry of Acute Coronary Events Investigators. Predictors of hospital mortality in the global registry of acute coronary events. *Arch Intern Med* 2003;163:2345–2353.
221. Morrow, DA. Cardiovascular Risk Prediction in Patients With Stable and Unstable Coronary Heart Disease. *Circulation* 2010;121:2681-2691.
222. Fihn, SD, Gardin JM, and Abrams J et al. «2012 ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS Guideline for the Diagnosis and Management of Patients With Stable Ischemic Heart Disease. *J Am Coll Cardiol* 2012;60: e44-e164.
223. Stone PH, Thompson B, Anderson HV, et al. Influence of race, sex, and age on management of unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: The TIMI III registry. *JAMA* 1996;275:1104-1212.
224. Yang Q, Cogswell ME, Flanders WD, et al. Trends in cardiovascular health metrics and associations with all-cause and CVD mortality among US adults. *JAMA* 2012;307:1273-1283.
225. Dong C, Rundek T, Wright CB, et al. Ideal cardiovascular health predicts lower risks of myocardial infarction, stroke, and vascular death

- across whites, blacks, and hispanics: the northern Manhattan study. *Circulation* 2012;125:2975-2984.
226. Myers J, Prakash M, Froelicher V, et al. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med* 2002;346:793-801.
 227. Barlow CE, Defina LF, Radford NB, et al. Cardiorespiratory fitness and long-term survival in "low-risk" adults. *J Am Heart Assoc* 2012;1 (2012): e001354.
 228. Bahit MC, Lopes RD, Clare RM, et al. Heart failure complicating non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol HF* 2013;1:223-229.
 229. Cotter G, Cannon CP, McCabe CH, et al and OPUS-TIMI 16 Investigators. Prior peripheral arterial disease and cerebrovascular disease are independent predictors of adverse outcome in patients with acute coronary syndromes: are we doing enough? Results from the Orbofiban in Patients with Unstable Coronary Syndromes-Thrombolysis In Myocardial Infarction (OPUS-TIMI) 16 study. *Am Heart J* 2003; 145:622-627.
 230. Roe MT, Chen AY, Thomas L, et al. Predicting long-term mortality in older patients after non-ST-segment elevation myocardial infarction: the CRUSADE long-term mortality model and risk score. *Am Heart J* 2011;162:875-883.
 231. Califf RM, Armstrong PW, Carver JR, et al. 27th Bethesda Conference: matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events. Task Force 5. Stratification of patients into high, medium and low risk subgroups for purposes of risk factor management. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1007–1019.
 232. Califf RM, Mark DB, Harrell FE Jr., et al. Importance of clinical measures of ischemia in the prognosis of patients with documented coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1988;11: 20-26.
 233. Killip T, Kimball JT. Treatment of myocardial infarction in a coronary care unit. A two year experience with 250 patients. *Am J Cardiol* 1967;20:457-464.

234. Stefan MS, Bannuru RR, Lessard D, et al. The impact of COPD on management and outcomes of patients hospitalized with acute myocardial infarction: a 10-year retrospective observational study. *Chest* 2012;141:1441-1448.
235. Sesso HD, Kawachi I, Vokonas PS, et al. Depression and the risk of coronary heart disease in the Normative Aging Study. *Am J Cardiol* 1998;82:851-856.
236. Gottlieb DJ, Yenokyan G, Newman AB, et al. Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure: the sleep heart health study. *Circulation* 2010;122:352-360.
237. Frasure-Smith N, Lesperance F, Talajic M. Depression following myocardial infarction. Impact on 6-month survival. *JAMA* 1993;270:1819-1825.
238. D'Agostino RB Sr, Grundy S, Sullivan LM, et al. JAMA. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA* 2001;286:180-187.
239. Lauer M.S., Pothier C.E., Magid D.J.. et al. An externally validated model for predicting long-term survival after exercise treadmill testing in patients with suspected coronary artery disease and a normal electrocardiogram. *Ann Intern Med* 2007;147:821-828.
240. Pryor D.B., Shaw L., Harrell F.E.. et al. Estimating the likelihood of severe coronary artery disease. *Am J Med* 1991;90:553-562.
241. Hubbard B.L., Gibbons R.J., Lapeyre A.C.. et al. Identification of severe coronary artery disease using simple clinical parameters. *Arch Intern Med* 1992;152:309-312.
242. Ho K.-T., Miller T.D., Hodge D.O.. et al. Use of a simple clinical score to predict prognosis of patients with normal or mildly abnormal resting electrocardiographic findings undergoing evaluation for coronary artery disease. *Mayo Clin Proc* 2002;77:515-521.
243. D'Agostino RB, Russell MW, MAPE et al. "Primary and subsequent coronary risk appraisal: New results from the Framingham Study". *Am Heart J* 2000;139:272-281
244. Goliasch G, Kleber ME, Richter B, et al. Routinely available biomarkers improve prediction of long-term mortality in stable coronary

- artery disease: the Vienna and Ludwigshafen Coronary Artery Disease (VILCAD) risk score. *Eur Heart J.* 2012;33:2282-2289.
245. Marschner IC, Colquhoun D, Simes RJ, et al. Long-Term Risk Stratification for Survivors of Acute Coronary Syndromes. Results From the Long-Term Intervention With Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Study. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:56–63
 246. Leipsic J, Taylor CM, Grunau G, et al. Cardiovascular Risk among Stable Individuals Suspected of Having Coronary Artery Disease with No Modifiable Risk Factors: Results from an International Multicenter Study of 5262 Patients. *Radiology* 2013;267:718-726
 247. Athauda-Arachchi P, Hutcheon S. Assessing the implications of implementing the NICE guideline 95 for evaluation of stable chest pain of recent onset: a single centre experience. *Scott Med J.* 2013;58:12-15.
 248. Robles P, Alonso Gutiérrez M, Olmedilla P, et al. Papel de las nuevas técnicas de diagnóstico de imagen en aterosclerosis. En: Egido J, Tuñón J, López-Bescós L (editores). *Aterotrombosis: de la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica*. Editorial Línea de Comunicación, Madrid 2004:65-76
 249. James SK, Armstrong P, Barnathan E, et al. Troponin and C-reactive protein have different relations to subsequent mortality and myocardial infarction after acute coronary syndrome: a GUSTO-IV substudy. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:916-924.
 250. Alexander JH, Sparapani RA, Mahaffey KW, et al. Association between minor elevations of creatine kinase-MB level and mortality in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. PURSUIT Steering Committee. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa in Unstable Angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy. *JAMA* 2000;283:347-353.
 251. Savonitto S, Granger CB, Ardissino D, et al. The prognostic value of creatine kinase elevations extends across the whole spectrum of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:22-29.

252. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 2004;350:655-663.
253. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998;97:2007-2011.
254. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999;99:237-242.
255. Ridker PM, Buring JE, Shih J, et al. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998;98:731-733.
256. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
257. Force., U.S. Preventive Services Task. Using nontraditional risk factors in coronary heart disease risk assessment: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2009;151:474-482.
258. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med* 2012;367:1310-1320.
259. Emberson J, Bennett D, Link E, et al. C-reactive protein concentration and the vascular benefits of statin therapy: an analysis of 20,536 patients in the Heart Protection Study. *Lancet* 2011;377:469-476.
260. Emerging Risk Factors Collaboration. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med* 2012;367:1310-1320.
261. Heart Protection Study Collaborative Group, Jonathan Emberson, Derrick Bennett, Emma Link, et al. C-reactive protein concentration and

- the vascular benefits of statin therapy: an analysis of 20,536 patients in the Heart Protection Study. *Lancet* 2011;377:469-476.
262. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1931-1936.
 263. Garlachs CD, Eskafi S, Raaz D, et al. Patients with acute coronary syndromes express enhanced CD40 ligand/CD154 on platelets. *Heart* 2001;86:649-655.
 264. Varo N, de Lemos JA, Libby P, et al. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1049-1052.
 265. Schonbeck U, Varo N, Libby P, et al. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation* 2001;104:2266-2268.
 266. Malik I, Danesh J, Whincup P, et al. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* 2001;358:971-976.
 267. Haim M, Tanne D, Boyko V, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease. Data from the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1133-1138.
 268. Zhang R, Brennan ML, Fu X, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001;286:2136-2142.
 269. Asselbergs FW, Reynolds WF, Cohen-Tervaert JW, et al. Myeloperoxidase polymorphism related to cardiovascular events in coronary artery disease. *Am J Med* 2004;116:429-430.
 270. Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003;349:1595-1604.
 271. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1440-1445.

272. Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001;345:1022-1029.
273. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:229-237.
274. Nakagomi A, Seino Y, Kohashi K, et al. Effects of statin therapy on the production of monocyte pro-inflammatory cytokines, cardiac function, and long-term prognosis in chronic heart failure patients with dyslipidemia. *Circ J.* 2012;76:2130-2138.
275. Moutzouri E, Tellis CC, Rousouli K, et al. Effect of simvastatin or its combination with ezetimibe on Toll-like receptor expression and lipopolysaccharide - induced cytokine production in monocytes of hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis* 2012;225:381-387.
276. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation* 2003;108:2317-2322.
277. Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: The Women's Health and Aging Study. *Circulation* 2001;103:947-953.
278. Mustafa A, Nityanand S, Berglund L, et al. Circulating immune complexes in 50-year-old men as a strong and independent risk factor for myocardial infarction. *Circulation* 2000;102:2576-2581.
279. Inoue T, Uchida T, Kamishirado H, et al. Antibody against oxidized low density lipoprotein may predict progression or regression of atherosclerotic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1871-1876.
280. Fibrinogen Studies Collaboration, Danesh J, Lewington S, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005; 294:1799-1809.

281. Danesh J, Whincup P, Walker M, et al. Fibrin D-dimer and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2001;103:2323-2327.
282. Salomaa V, Matei C, Aleksic N, et al. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: a case-cohort study. *Lancet* 1999;353:1729-1734.
283. Doggen CJ, Rosendaal FR, Meijers JC. Levels of intrinsic coagulation factors and the risk of myocardial infarction among men: Opposite and synergistic effects of factors XI and XII. *Blood* 2006;108:4045-4051.
284. Albert MA, Glynn RJ, Wolfert RL et al. The effect of statin therapy on lipoprotein associated phospholipase A2 levels. *Atherosclerosis* 2005;182:193-198 .
285. Leitinger N, Watson AD, Hama SY, et al. Role of group II secretory phospholipase A2 in atherosclerosis. 2. Potential involvement of biologically active oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1291-1298.
286. Kugiyama K, Ota Y, Takazoe K, et al. Circulating levels of secretory type II phospholipase A2 predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999;100:1280-1284.
287. Ivandic B, Castellani LW, Wang X-P, et al. Role of group II phospholipase A2 in atherosclerosis. Increased atherogenesis and altered lipoproteins in transgenic mice expressing group IIa phospholipase A2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1284-1290.
288. Packard CJ, O'Reilly D, Caslake M, et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 as an Independent Predictor of Coronary Heart Disease. *N Engl J Med* 2000;343:1148-1155.
289. Blake GJ, Dada N, Fox JC, et al. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1302-1306 .
290. März W, Meinitzer A, Drechsler C, et al. Homoarginine, cardiovascular risk, and mortality. *Circulation* 2010;122:967-975.

291. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, et al. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation* 2011;104:3052-3056.
292. Horne BD, Anderson JL, John JM, et al. Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk?. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1638-1643.
293. Pai JK, Pischon T, Ma J, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med* 2004;351:2599-2610.
294. Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, et al. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation* 2002;106:24-30.
295. Valgimigli M, Ceconi C, Malagutti P, et al. Tumor necrosis factor- α receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: the Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial Infarction (C-ALPHA) study. *Circulation* 2005;111:863-870.
296. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation* 2001;103:491-495.
297. Haim M, Tanne D, Boyko V, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease. Data from the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1133-1138.
298. Roldán V, Marín F, Lip GY, et al. Soluble E-selectin in cardiovascular disease and its risk factors. A review of the literature. *Thromb Haemost* 2003;90:1007-1020.
299. Jobs E, Ingelsson E, Risérus U, et al. Association between serum cathepsin S and mortality in older adults. *JAMA* 2011;306:1113-1121.
300. Garza CA, Montori VM, McConnell JP, et al. Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc* 2007;82:159-165.
301. Authors of Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) [No authors listed]. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients

- with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344:1383-1389.
302. Hasin T, Gerber Y, McNallan SM et al. Patients with heart failure have an increased risk of incident cancer. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62;881-886.
 303. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002;347:161-167.
 304. Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, and urinary albumin levels as predictors of mortality and cardiovascular events in older adults. *JAMA* 2005;293:1609-1616.
 305. de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, et al. The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2001;345:1014-1021.
 306. James SK, Lindahl B, Siegbahn A, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: a Global Utilization of Strategies To Open occluded arteries (GUSTO)-IV substudy. *Circulation* 2003;108:275-281.
 307. Schnabel R, Lubos E, Rupprecht HJ, et al. B-type natriuretic peptide and the risk of cardiovascular events and death in patients with stable angina: results from the AtheroGene study. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:552-558.
 308. Dumic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta* 2006;1760:616-635.
 309. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:569-582.
 310. Lok DJ, Van Der Meer P, de la Porte PW, et al. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: data from the DEAL-HF study. *Clin Res Cardiol* 2010;99:323-328.

311. Lopez-Andr s N, Rossignol P, Iraqi W, et al. Association of galectin-3 and fibrosis markers with long-term cardiovascular outcomes in patients with heart failure, left ventricular dysfunction, and dyssynchrony: insights from the CARE-HF (Cardiac Resynchronization in Heart Failure) trial. *Eur J Heart Fail* 2012;14:74-81.
312. Grandin EW, Jarolim P, Murphy SA, et al. Galectin-3 and the development of heart failure after acute coronary syndrome: pilot experience from PROVE IT-TIMI 22. *Clin Chem* 2012;58:267-273 .
313. Ramos-Mozo P, Madrigal-Matute J, Vega de Ceniga M, et al. Increased plasma levels of NGAL, a marker of neutrophil activation, in patients with abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis* 2012;220:552-556.
314. Soni SS, Ronco C, Katz N, et al. Early diagnosis of acute kidney injury: the promise of novel biomarkers. *Blood Purif* 2009;28:165-174.
315. Yndestad A, Landr  L, Ueland T, et al. Increased systemic and myocardial expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in clinical and experimental heart failure. *Eur Heart J* 2009;30:1229-1236.
316. Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, Muñoz-García B, et al. Identification of soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK) as a possible biomarker of subclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:916-922.
317. Gu L, Okada Y, Clinton SK, et al. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol Cell* 1998;2:275–281.
318. Gosling J, Slaymaker S, Gu L, et al. MCP-1 deficiency reduces susceptibility to atherosclerosis in mice that overexpress human apolipoprotein. *B J Clin Invest J* 1999;103:773-778.
319. Lutgens E, Faber B, Schapira K, et al. Gene profiling in atherosclerosis reveals a key role for small inducible cytokines: validation using a novel monocyte chemoattractant protein monoclonal antibody. *Circulation* 2005;111:3443-3452.
320. Cannon CP, McCabe CH, Wilcox RG, et al. Oral glycoprotein IIb/IIIa inhibition with orbofiban in patients with unstable coronary syndromes (OPUS-TIMI 16) trial. *Circulation* 2000;102:149-156.

321. Fox K, Garcia MA, Ardissino D, et al. Guidelines on the management of stable angina pectoris. *Eur Heart J* 2006;27:1341-1381.
322. Wanner C, Krane V, März W, et al. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2005;353:238-248.
323. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, et al. B-Type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation* 2002;106:416-422
324. Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K et al. Use of B-Type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea. *N Engl J Med* 2004;350:647-654
325. Waldo SW, Beede J, Isakson S et al. Pro-B-type natriuretic peptide levels in acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1874-1882
326. Kjekshus J, Apetrei E, Barrios V et al. Rosuvastatin in Older Patients with Systolic Heart Failure. *N Engl J Med* 2007;357:2248-2261
327. Gullestad L, Ueland T, Kjekshus et al. The predictive value of galectin-3 for mortality and cardiovascular events in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA). *Am Heart J* 2012;164:878-883
328. Gullestad L, Ueland T, Kjekshus J et al. Galectin-3 predicts response to statin therapy in the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA). *Eur Heart J* 2012;33:2290-2296
329. Aujollet N, Meyer M, Cailliod R et al. High N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide: A biomarker of lung Cancer? *Clinical Lung Cancer* 2010;11:341-345
330. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012) . *Eur Heart J* 2012;33:1635-1701.